

---

---

**Lait, produits laitiers et ferments  
mésophiles — Dénombrement des  
bactéries lactiques fermentant le  
citrate — Technique de comptage  
des colonies à 25 °C**

*Milk, milk products and mesophilic starter cultures — Enumeration  
of citrate-fermenting lactic acid bacteria — Colony-count technique  
at 25 °C*

**iTeh STANDARDS PLATFORM  
(standards.iteh.ai)**

[ISO 17792:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57cccf5-3d28-4d4d-ac45-5ace845ba2fc/iso-17792-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57cccf5-3d28-4d4d-ac45-5ace845ba2fc/iso-17792-2006>



Numéros de référence  
ISO 17792:2006(F)  
FIL 180:2006(F)

**PDF – Exonération de responsabilité**

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO et la FIL déclinent toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO et les comités nationaux de la FIL. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central de l'ISO à l'adresse donnée ci-dessous.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 17792:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ccfc5-3d28-4d4d-ac45-5ace845ba2fc/iso-17792-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ccfc5-3d28-4d4d-ac45-5ace845ba2fc/iso-17792-2006>

© ISO et FIL 2006

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit soit de l'ISO, soit de la FIL aux adresses respectives ci-après.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Fédération Internationale de Laiterie  
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Bruxelles  
Tel. + 32 2 733 98 88  
Fax + 32 2 733 04 13  
E-mail [info@fil-idf.org](mailto:info@fil-idf.org)  
Web [www.fil-idf.org](http://www.fil-idf.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Avant-propos.....	v
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Références normatives</b> .....	1
3 <b>Termes et définitions</b> .....	1
4 <b>Principe</b> .....	2
5 <b>Diluants, milieux de culture et réactifs</b> .....	2
6 <b>Appareillage et verrerie</b> .....	6
7 <b>Échantillonnage</b> .....	7
8 <b>Préparation et ensemencement</b> .....	7
8.1 <b>Préparation de l'échantillon et de la prise d'essai</b> .....	7
8.2 <b>Examen microscopique</b> .....	7
8.3 <b>Préparation de la dilution primaire</b> .....	8
8.4 <b>Préparation des dilutions décimales</b> .....	8
8.5 <b>Ensemencement</b> .....	8
9 <b>Mode opératoire</b> .....	8
9.1 <b>Dénombrement des différentes espèces de coques fermentant le citrate</b> .....	8
9.2 <b>Dénombrement des leuconostocs</b> .....	9
9.3 <b>Confirmation</b> .....	9
10 <b>Calcul et expression des résultats</b> .....	9
10.1 <b>Calcul</b> .....	9
10.2 <b>Expression des résultats d'essai</b> .....	10
10.3 <b>Exemple de calcul</b> .....	11
11 <b>Fidélité</b> .....	11
12 <b>Rapport d'essai</b> .....	11
Bibliographie .....	12

## Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 17792|FIL 180 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération internationale de laiterie (FIL). Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL.

[ISO 17792:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ccfc5-3d28-4d4d-ac45-5ace845ba2fc/iso-17792-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ccfc5-3d28-4d4d-ac45-5ace845ba2fc/iso-17792-2006>

## Avant-propos

La FIL (Fédération internationale de laiterie) est une fédération mondiale du secteur laitier avec un Comité National dans chacun de ses pays membres. Chaque Comité National a le droit de faire partie des Comités permanents de la FIL auxquels sont confiés les travaux techniques. La FIL collabore avec l'ISO pour l'élaboration de méthodes normalisées d'analyse et d'échantillonnage pour le lait et les produits laitiers.

Les projets de Normes internationales adoptés par les Équipes d'Action et les Comités permanents sont soumis aux Comités Nationaux pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 50 % au moins des Comités Nationaux votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

La Norme internationale ISO 17792|FIL 180 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34 *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5 *Lait et produits laitiers*, et la Fédération internationale de laiterie (FIL). Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL.

L'ensemble des travaux a été confié à l'Équipe d'Action mixte ISO-FIL, *Ferments de bactéries lactiques* du comité permanent *Méthodes microbiologiques d'analyse*, sous la conduite de son chef de projet, Monsieur B. Bianchi-Salvadori (Italie).

Cette première édition de l'ISO 17792|FIL 180 annule et remplace la première édition de la FIL 180:1997, qui a fait l'objet d'une révision technique.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ccfc5-3d28-4d4d-ac45-5ace845ba2fc/iso-17792-2006>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 17792:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ccfc5-3d28-4d4d-ac45-5aee845ba2fc/iso-17792-2006>

# Lait, produits laitiers et ferments mésophiles — Dénombrement des bactéries lactiques fermentant le citrate — Technique de comptage des colonies à 25 °C

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie des méthodes de dénombrement des bactéries lactiques fermentant le citrate, à l'aide d'une technique par comptage des colonies à 25 °C.

Ces méthodes sont applicables aux ferments lactiques et aux produits laitiers dans lesquels ces micro-organismes caractéristiques sont présents.

## 2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 565, *Tamis de contrôle — Tissus métalliques, tôles métalliques perforées et feuilles électroformées — Dimensions nominales des ouvertures*

ISO 7218, *Microbiologie des aliments — Règles générales pour les examens microbiologiques*

ISO 8261 | FIL 122, *Lait et produits laitiers — Lignes directrices générales pour la préparation des échantillons pour essai, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*

## 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

### 3.1

#### **bactérie fermentant le citrate**

bactérie lactique homofermentaire ou hétérofermentaire, formant des colonies lenticulaires d'un diamètre compris entre 0,5 mm et 1,2 mm dans des milieux sélectifs contenant du citrate et les indicateurs spécifiques spécifiés dans la présente Norme internationale

NOTE Les bactéries lactiques mésophiles fermentant le citrate les plus souvent rencontrées appartiennent aux espèces suivantes.

a) Pour les lactocoques:

— *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*.

Aspect microscopique: Les lactocoques sont généralement des cellules sphériques ou ovoïdes (de 0,4 µm à 1,0 µm), en paires ou en chaînes. Elles sont asporulées, Gram-positifs, non mobiles et catalase-négative.

b) Pour les leuconostocs:

- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*;
- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*;
- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*;
- *Leuconostoc lactis*.

Aspect microscopique: Les leuconostocs sont généralement des cellules sphériques ou ovoïdes (de 0,4 µm à 0,5 µm), en paires ou en chaînes. Elles sont asporulées, Gram-positifs, non mobiles et catalase-négative.

## 4 Principe

4.1 Ensemencement de dilutions décimales de l'échantillon dans:

- a) Milieu de Nickels et Leesment [4] modifié par Vogensen et al. [3], suivi d'une incubation en aérobiose à 25 °C pendant 72 h, pour le dénombrement des bactéries fermentant le citrate (avec halo) ou non (sans halo). Puis, ajout de X-gal suivi d'une incubation en aérobiose à température ambiante pendant 24 h pour la différenciation entre les espèces *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* (colonies blanches avec halo) et leuconostoc (colonies bleues avec ou sans halo).
- b) Milieu de Nickels et Leesment [4] plus vancomycine, suivi d'une incubation en aérobiose à 25 °C pendant 3 jours à 5 jours, pour le dénombrement des leuconostocs.

4.2 Comptage des colonies et confirmation par des essais appropriés.

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57cccfc5-3d28-4d4d-ac45-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57cccfc5-3d28-4d4d-ac45-577922006)

4.3 Calcul du nombre de micro-organismes caractéristiques par gramme d'échantillon, à partir du nombre de colonies obtenu sur les boîtes de Pétri à des niveaux de dilution permettant d'obtenir un résultat significatif.

## 5 Diluants, milieux de culture et réactifs

### 5.1 Généralités

Sauf spécification contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée, ou de pureté équivalente.

Les essais servant à déterminer si l'eau est appropriée ou non pour des applications microbiologiques ont été publiés [2].

**ATTENTION — Certains réactifs sont toxiques et/ou dangereux et peuvent provoquer des allergies par inhalation ou par contact avec la peau.**

### 5.2 Composants de base

Voir l'ISO 8261 | FIL 122 et l'ISO 7218.

### 5.3 Diluant

Voir ISO 8261 | FIL 122.

## 5.4 Milieux de culture

### 5.4.1 Milieu de Nickels et Leesment + X-gal [3]

NOTE Le principal problème de l'usage du milieu de Nickels et Leesment modifié est la faible croissance des bactéries lactiques ne fermentant pas le citrate. La croissance de ces bactéries est importante, mais ces bactéries sont trop petites et risquent d'être confondues avec les particules du citrate de calcium insoluble.

#### 5.4.1.1 Milieu de base

##### 5.4.1.1.1 Composition

Digestion trypsique de caséine	20,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Gélatine	2,5 g
Glucose (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	5,0 g
Lactose (C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> )	5,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	4,0 g
Citrate trisodique dihydraté (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>7</sub> ·2H <sub>2</sub> O)	2,0 g
Agar	(de 12,0 g à 15,0 g) <sup>a</sup>
Eau	1 000 ml

<sup>a</sup> Selon le pouvoir gélifiant de l'agar. (standards.iteh.ai)

ISO 17792:2006

##### 5.4.1.1.2 Préparation

Mettre en suspension dans l'eau chacun des ingrédients séparément. Chauffer jusqu'à ébullition en agitant fréquemment afin de dissoudre complètement tous les ingrédients. Ensuite, les mélanger soigneusement. Ajouter de l'eau jusqu'à un volume de 1 000 ml.

Répartir le milieu dans des flacons et stériliser à l'autoclave réglé à 121 °C ± 1 °C pendant 15 min. Si nécessaire, ajuster le pH à l'aide d'un réactif d'ajustement (5.5) et du pH-mètre (6.7), de manière qu'après la stérilisation, le pH ait une valeur comprise entre 6,6 et 6,7.

#### 5.4.1.2 Solution de lactate de calcium

##### 5.4.1.2.1 Composition

Lactate de calcium pentahydraté (C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> CaO <sub>6</sub> ·5H <sub>2</sub> O)	8,0 g
Eau	100 ml

##### 5.4.1.2.2 Préparation

Dissoudre dans l'eau le lactate de calcium pentahydraté en chauffant. Stériliser à l'autoclave réglé à 121 C ± 1 °C pendant 15 min.

### 5.4.1.3 Suspension de citrate de calcium

#### 5.4.1.3.1 Composition

Dicitrate tricalcique tétrahydraté (C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> Ca <sub>3</sub> O <sub>14</sub> ·4H <sub>2</sub> O)	13,3 g
Carboxyméthylcellulose (CMC)	0,8 g
Eau	100 ml

#### 5.4.1.3.2 Préparation

Dans un mortier, broyer le CMC et le citrate de calcium tétrahydraté, préalablement passé dans un tamis ayant une ouverture de maille nominale de 0,8 mm (voir l'ISO 565).

Ajouter lentement de l'eau préchauffée à environ 45 °C jusqu'à obtenir un volume de 100 ml. Mélanger pendant 10 min et filtrer à travers un chiffon de coton. Stériliser le filtrat à l'autoclave réglé à 121 °C ± 1 °C pendant 15 min.

NOTE Environ 30 % du citrate de calcium est perdu au cours de la filtration.

#### 5.4.1.4 Sérum de levain

Préparer le sérum de levain, en ensemençant un sérum de levain L-, D- ou LD dans un lait écrémé ou un lait écrémé reconstitué dans un autoclave durant 24 h à 25 °C ± 1 °C.

Filtrer à travers un papier-filtre et stériliser le filtrat à 115 °C ± 1 °C pendant 15 min. Éliminer les sédiments par décantation et stériliser de nouveau 200 ml de filtrat.

#### 5.4.1.5 Solution de X-gal

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ccfc5-3d28-4d4d-ac45-5ace845ba2fc/iso-17792-2006>

**ATTENTION — Le X-gal et le NMP sont toxiques et doivent être manipulés sous une hotte aspirante.**

#### 5.4.1.5.1 Composition

5-Bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside (X-gal)	400 mg
N-Méthyl-2-pyrrolidone (NMP)	100 ml

#### 5.4.1.5.2 Préparation

Dissoudre le X-gal dans le NMP et stériliser par filtration (voir 6.13) à travers un filtre Durapore (par exemple Millipore)<sup>1)</sup> de 0,45 µm. Conserver la solution à 20 °C.

1) Millipore est le nom du fabricant du produit commercialisé.

Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne saurait constituer un engagement de l'ISO ou de la FIL à l'égard de ce produit.

#### 5.4.1.6 Milieu complet

##### 5.4.1.6.1 Composition

Milieu de base (5.4.1.1)	900 ml
Solution de lactate de calcium (5.4.1.2)	100 ml
Suspension de citrate de calcium (5.4.1.3)	50 ml
Sérum de levain (5.4.1.4)	100 ml

##### 5.4.1.6.2 Préparation

Juste avant utilisation, faire fondre le milieu de base (5.4.1.1) dans de l'eau bouillante. Lorsqu'il est fondu, refroidir le milieu de base à une température comprise entre 48 °C et 50 °C.

Préchauffer la solution de lactate de calcium (5.4.1.2), la suspension de citrate de calcium (5.4.1.3) et le sérum de levain (5.4.1.4) dans un bain d'eau (6.6) réglé à une température comprise entre 48 °C et 50 °C. Ajouter de manière aseptique chacun de ces composants au milieu de base fondu et mélanger.

#### 5.4.2 Milieu de Nickels et Leesment [4] plus vancomycine

##### 5.4.2.1 Milieu de base

Voir 5.4.1.1.

ITeH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

##### 5.4.2.2 Solution de lactate de calcium

Voir 5.4.1.2.

ISO 17792:2006  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57cccf5-3d28-4d4d-ac45-5ace845ba2fc/iso-17792-2006>

##### 5.4.2.3 Suspension de citrate de calcium

Voir 5.4.1.3.

##### 5.4.2.4 Sérum de levain

Voir 5.4.1.4.

##### 5.4.2.5 Solution de vancomycine (fraction volumique 2 %)

**ATTENTION — La vancomycine peut provoquer des allergies par inhalation ou par contact avec la peau. Les femmes enceintes ou allaitant ne doivent pas manipuler ce produit.**

##### 5.4.2.5.1 Composition

Vancomycine	de 360 mg à 440 mg
Eau	20 ml

##### 5.4.2.5.2 Préparation

Dissoudre la vancomycine dans l'eau distillée et stériliser par filtration.

La solution de vancomycine peut être conservée à une température comprise entre 4 °C et 7 °C pendant une semaine ou à -20 °C pendant quatre semaines.