

NORME
INTERNATIONALE

ISO
6730

FIL
101

Deuxième édition
2005-09-15

**Lait — Dénombrement des unités formant
colonie de micro-organismes
psychrotrophes — Technique par
comptage des colonies à 6,5 °C**

*Milk — Enumeration of colony-forming units of psychrotrophic
microorganisms — Colony-count technique at 6,5 °C*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6730:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/64080ff6-85c7-4532-8765-c185a3161f45/iso-6730-2005)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/64080ff6-85c7-4532-8765-
c185a3161f45/iso-6730-2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/64080ff6-85c7-4532-8765-c185a3161f45/iso-6730-2005)



Numéros de référence
ISO 6730:2005(F)
FIL 101:2005(F)

© ISO et FIL 2005

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 6730:2005](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/64080ff6-85c7-4532-8765-c185a3161f45/iso-6730-2005>

© ISO et FIL 2005

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 à l'adresse respective 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
Web 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
Web www.fil-idf.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
5 Diluant et milieu de culture	2
5.1 Généralités	2
5.2 Composant de base	2
5.3 Diluants d'emploi général	2
5.4 Répartition, stérilisation et conservation	2
5.5 Milieu de culture	2
6 Appareillage et verrerie	3
7 Échantillonnage	4
8 Mode opératoire	4
8.1 Généralités	4
8.2 Préparation de l'échantillon pour essai et dilution primaire	4
8.3 Dilutions décimales suivantes	4
8.4 Durée des opérations	4
8.5 Ensemencement et incubation	5
8.6 Interprétation	5
9 Expression des résultats	6
10 Répétabilité	7
11 Rapport d'essai	7
Bibliographie	8

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 6730|FIL 101 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 6730:2005](http://standards.iso.org/iso/6730-2005)

Cette édition de l'ISO 6730|FIL 101 annule et remplace l'ISO 6730:1992, dont elle constitue une révision mineure.

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 de la FIL 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. La FIL ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 6730|FIL 101 a été élaborée par la Fédération internationale de laiterie (FIL) et le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*. Elle est publiée conjointement par la FIL et l'ISO.

L'ensemble des travaux a été confié à l'Équipe d'Action mixte ISO/FIL/AOAC du Comité permanent chargé des *Contaminants non pathogènes avec les techniques classiques* (E22), sous la conduite de son chef de projet, Monsieur H. Asperger (AT). (standards.itech.ai)

Cette édition annule et remplace la FIL 101A.1991.

[ISO 6730:2005](#)

<https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/64080ff6-85c7-4532-8765-c185a3161f45/iso-6730-2005>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6730:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/64080ff6-85c7-4532-8765-c185a3161f45/iso-6730-2005>

Lait — Dénombrement des unités formant colonie de micro-organismes psychrotrophes — Technique par comptage des colonies à 6,5 °C

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de dénombrement des unités formant colonie (UFC) de micro-organismes psychrotrophes dans le lait cru et le lait traité thermiquement par la technique de comptage de colonie à 6,5 °C.

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 6887-1:1999, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales* <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/64080ff6-85c7-4532-8765-186a3161857c-6730-2005>

ISO 7218:1996, *Microbiologie des aliments — Règles générales pour les examens microbiologiques*

ISO 8261:2001, *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

micro-organismes psychrotrophes

bactéries, levures et moisissures formant des colonies dénombrables dans les conditions spécifiées dans la présente Norme internationale

4 Principe

4.1 Ensemencement en profondeur d'un milieu de culture défini, coulé dans des boîtes de Petri avec une quantité spécifiée d'échantillon pour essai. Ensemencement d'autres boîtes, dans les mêmes conditions, en utilisant des dilutions décimales de l'échantillon pour essai.

4.2 Incubation des boîtes en aérobiose à 6,5 °C pendant 10 jours.

4.3 Calcul du nombre d'unités formant colonie (UFC) de micro-organismes par millilitre d'échantillon à partir du nombre de colonies obtenues sur des boîtes choisies à des niveaux de dilution permettant d'obtenir un résultat significatif.

5 Diluant et milieu de culture

5.1 Généralités

Pour les pratiques courantes de laboratoire, voir ISO 7218.

5.2 Composant de base

Voir ISO 8261.

5.3 Diluants d'emploi général

Voir ISO 8261.

5.4 Répartition, stérilisation et conservation

Voir ISO 8261.

5.5 Milieu de culture

5.5.1 Composants

Tryptone	5,0 g
Extraits de levure	2,5 g
Glucose monohydraté (C ₆ H ₁₂ O ₆ ,H ₂ O)	1,0 g
Poudre de lait écrémé ^a	1,0 g
Agar-agar	10 g à 15 g ^b
Eau	1 000 ml

^a La poudre de lait écrémé doit être exempte de substance inhibitrices. Ceci devrait être vérifié par des essais comparatifs utilisant de la poudre de lait écrémé connue pour être exempte de telles substances.

^b Selon le pouvoir gélifiant de l'agar-agar.

5.5.2 Préparation

5.5.2.1 Préparation à partir du milieu complet déshydraté du commerce

Suivre les prescriptions du fabricant mais, dans tous les cas, ajouter de la poudre de lait écrémé, même si le fabricant considère cette adjonction comme superflue.

Si nécessaire, ajuster le pH de façon qu'après stérilisation, il soit de 7,0 à 25 °C.

5.5.2.2 Préparation à partir des composants de base déshydratés

Dissoudre et disperser dans l'eau, dans l'ordre suivant: l'extrait de levure, la tryptone, le glucose et, en dernier lieu, la poudre de lait écrémé.

NOTE Le chauffage de l'eau facilite cette opération.

Ajouter ensuite l'agar-agar et porter à ébullition, en agitant fréquemment jusqu'à ce que l'agar-agar soit complètement fondu, ou chauffer à la vapeur pendant environ 30 min. Si la solution n'est pas claire, filtrer sur papier-filtre.

Si nécessaire, ajuster le pH de façon qu'après stérilisation, il soit de 7,0 à 25 °C.

5.5.2.3 Répartition, stérilisation et conservation

Répartir le milieu dans des tubes à essais (6.9) à raison de 12 ml à 15 ml par tube ou dans des flacons ou des bouteilles (6.9) à raison de 100 ml à 150 ml.

Stériliser à l'autoclave (6.1) à $121\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant 15 min. Si le milieu doit être utilisé immédiatement, le refroidir à 45 °C au bain d'eau (6.5). Dans le cas contraire, avant de commencer l'examen microbiologique, et afin d'éviter toute attente au moment de couler la gélose, faire fondre complètement le milieu au bain d'eau bouillante (6.6), puis le refroidir à 45 °C au bain d'eau (6.5). (Voir également 8.5.4.)

Conserver le milieu à l'obscurité à une température située entre 0 °C et $+5\text{ °C}$ pendant une durée maximale de 3 mois après la préparation.

Afin de contrôler la température de l'agar-agar, il est recommandé de placer un thermomètre dans un volume de solution d'agar-agar à 15 g/l contenu dans un autre récipient identique à celui utilisé pour le milieu. Cette solution de contrôle de la température devra subir les mêmes opérations de chauffage et de refroidissement que le milieu lui-même.

iTeh STANDARD PREVIEW

6 Appareillage et verrerie (standards.iteh.ai)

ATTENTION — Le matériel destiné à entrer en contact avec l'échantillon pour essai, le diluant, les dilutions ou le milieu de culture doit être stérilisé conformément à l'ISO 8261.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/64080ff6-85c7-4532-8765-19521614554a/iso-6730-2005>

Le matériel à usage unique est acceptable au même titre que la verrerie réutilisable, si les spécifications sont similaires.

Matériel courant de laboratoire de microbiologie, matériel nécessaire à la préparation des échantillons pour essais et aux dilutions, comme spécifié dans l'ISO 8261, et notamment ce qui suit.

6.1 Appareils pour la stérilisation en chaleur sèche (four) ou en chaleur humide (autoclave).

Voir ISO 7218.

6.2 Étuve, réglable à $6,5\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$.

6.3 Boîtes de Petri, en verre ou en plastique, de 90 mm à 100 mm de diamètre.

6.4 Pipettes graduées, bouchées avec du coton, étalonnées pour délivrer $1\text{ ml} \pm 0,02\text{ ml}$ ou $10\text{ ml} \pm 0,2\text{ ml}$ ou $11\text{ ml} \pm 0,2\text{ ml}$.

6.5 Bain d'eau, réglable à $45\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

6.6 Bain d'eau, réglable à une température supérieure à 100 °C .

6.7 Appareil de comptage des colonies, comportant un système d'éclairage avec fond noir équipé d'une loupe d'un grossissement de $\times 1,5$ et d'un compteur numérique mécanique ou électronique.

6.8 pH-mètre à compensation de température, précis à $\pm 0,1$ unité de pH à 25 °C .