

---

---

**Viande et produits à base de viande —  
Dénombrement des *Pseudomonas* spp.  
présomptifs**

*Meat and meat products — Enumeration of presumptive Pseudomonas spp.*

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

[ISO 13720:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84cfef19-a01a-4039-80c7-313245da81e1/iso-13720-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84cfef19-a01a-4039-80c7-313245da81e1/iso-13720-2010>



**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 décline 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. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

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

[ISO 13720:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84cfe19-a01a-4039-80c7-313245da81e1/iso-13720-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84cfe19-a01a-4039-80c7-313245da81e1/iso-13720-2010>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2010

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 de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

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)

Publié en Suisse

## 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 13720 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 13720:1995), qui a fait l'objet d'une révision technique.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84cfe19-a01a-4039-80c7-313245da81e1/iso-13720-2010>

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

ISO 13720:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84cfe19-a01a-4039-80c7-313245da81e1/iso-13720-2010>

# Viande et produits à base de viande — Dénombrement des *Pseudomonas* spp. présumptifs

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode pour le dénombrement des *Pseudomonas* spp. présumptifs présents dans la viande et les produits à base de viande, y compris les volailles.

## 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 (y compris les éventuels amendements) s'applique.

ISO 6887-1, *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*

ISO 6887-2, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 2: Règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits à base de viande* [ISO 13720:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84cfe19-a01a-4039-80c7-313e77292804)

ISO 7218, *Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations*

ISO/TS 11133-1, *Microbiologie des aliments — Lignes directrices pour la préparation et la production des milieux de culture — Partie 1: Lignes directrices générales d'assurance qualité pour la préparation des milieux de culture en laboratoire*

ISO/TS 11133-2, *Microbiologie des aliments — Guide pour la préparation et la production des milieux de culture — Partie 2: Guide général pour les essais de performance des milieux de culture*

## 3 Termes et définitions

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

### 3.1

#### ***Pseudomonas* spp. présumptifs**

bactéries qui, à 25 °C, forment des colonies dans un milieu gélosé au cétrimide, au fusidate de sodium et à la céphalothine (CFC) et qui présentent une réaction positive à l'oxydase lorsque l'essai est effectué conformément à la méthode décrite dans la présente Norme internationale

## 4 Principe

Une suspension mère et des dilutions décimales sont préparées à partir de l'échantillon pour essai.

Le milieu sélectif solide gélosé CFC estensemencé avec une quantité spécifiée de la suspension mère du produit.

## ISO 13720:2010(F)

D'autres boîtes sont préparées dans les mêmes conditions, en utilisant des dilutions décimales de la suspension mère.

Les boîtes sont incubées à 25 °C pendant 44 h ± 4 h.

Les colonies de *Pseudomonas* spp. présumptifs sont confirmées par l'essai à l'oxydase (réaction positive).

Le nombre de *Pseudomonas* spp. présumptifs par millilitre, ou par gramme, de l'échantillon pour essai est calculé à partir du nombre de colonies confirmées par boîte.

## 5 Diluant, milieu de culture et réactif

### 5.1 Généralités

Pour les pratiques courantes de laboratoire, voir l'ISO 7218; pour la fabrication et le contrôle des milieux de culture, voir l'ISO/TS 11133-1 et l'ISO/TS 11133-2.

### 5.2 Diluant

Voir l'ISO 6887-1 et l'ISO 6887-2.

### 5.3 Milieu gélosé au cétrimide, au fusidate de sodium et à la céphalothine (voir Référence [3])

#### 5.3.1 Milieu de base

##### 5.3.1.1 Composition

Digestat enzymatique de gélatine	16,0 g
Digestat enzymatique de caséine	10,0 g
Sulfate de potassium (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	10,0 g
Chlorure de magnésium (MgCl <sub>2</sub> )	1,4 g
Agar-agar <sup>a</sup>	12,0 g à 18,0 g
Eau	1 000 ml

<sup>a</sup> La masse utilisée dépend du pouvoir gélifiant de l'agar-agar.

##### 5.3.1.2 Préparation

Dissoudre les composants de base ou le milieu de base déshydraté dans l'eau, en portant à ébullition.

Ajuster le pH (6.4), si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation il soit de 7,2 ± 0,2 à 25 °C.

Répartir le milieu de base dans des flacons ou des bouteilles de capacité appropriée (6.6).

Stériliser à l'autoclave (6.1) à 121 °C pendant 15 min.

##### 5.3.2 Solutions d'inhibiteur

Ne pas conserver les solutions plus de 7 jours à 5 °C ± 3 °C.

###### 5.3.2.1 Solution de céphalothine

###### 5.3.2.1.1 Composition

Sel de sodium de céphalothine	0,1 g
Eau	100 ml

**5.3.2.1.2 Préparation**

Dissoudre la céphalothine dans l'eau et stériliser la solution par filtration.

**5.3.2.2 Solution de fusidate de sodium****5.3.2.2.1 Composition**

Fusidate de sodium	0,1 g
Eau	100 ml

**5.3.2.2.2 Préparation**

Dissoudre le fusidate de sodium dans l'eau et stériliser la solution par filtration.

**5.3.2.3 Solution de cétrimide****5.3.2.3.1 Composition**

Cétrimide <sup>a</sup>	0,1 g
Eau	100 ml
<sup>a</sup> Mélange consistant principalement en bromure de tétradécyltriméthylammonium avec de petites quantités de bromure de dodécyltriméthylammonium et de bromure de cétrimonium (hexadécyltriméthylammonium).	

**5.3.2.3.2 Préparation**

Dissoudre le cétrimide dans l'eau et stériliser la solution par filtration.

**5.3.3 Milieu complet****5.3.3.1 Composition**

	Volume ml	Concentration finale µg/ml
Milieu de base (5.3.1)	100	—
Solution de céphalotine (5.3.2.1)	5	50
Solution de fusidate de sodium (5.3.2.2)	1	10
Solution de cétrimide (5.3.2.3)	1	10

**5.3.3.2 Préparation**

Ajouter les solutions d'inhibiteurs au milieu de base, refroidi dans un bain d'eau à  $47\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$  (6.3), puis mélanger soigneusement.

**5.3.4 Préparation des boîtes de gélose CFC**

Répartir le milieu complet (5.3.3), par quantités d'environ 15 ml, dans des boîtes de Petri stériles (6.8) et laisser se solidifier.

Il convient de sécher les boîtes de gélose, conformément à l'ISO/TS 11133-1, immédiatement avant l'utilisation.

Si elles sont préparées à l'avance, les boîtes de milieu gélosé ne doivent pas être conservées plus de 4 semaines à  $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$  si elles n'ont pas été séchées au préalable.

### 5.3.5 Essai de performance

Pour la définition de la sélectivité et de la productivité, se référer à l'ISO/TS 11133-1. L'essai de performance du milieu gélosé CFC doit être conforme aux méthodes et aux critères décrits dans l'ISO/TS 11133-2.

#### 5.3.5.1 Productivité

- Incubation: À 25 °C ± 1 °C pendant 44 h ± 4 h
- Souche: *Pseudomonas fluorescens* WDCM 00115<sup>1)</sup>  
*Pseudomonas fragi* WDMC 00116<sup>1)</sup>
- Milieu de référence: Milieu gélosé à la tryptone de soja (TSA)
- Méthode de contrôle: Quantitative
- Critère: Rapport de productivité  $P_R \geq 0,5$

#### 5.3.5.2 Sélectivité

- Incubation: À 25 °C ± 1 °C pendant 44 h ± 4 h
- Souche: *Escherichia coli* WDMC 00013<sup>1)</sup>
- Méthode de contrôle: Quantitative
- Critère: Inhibition totale

STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

### 5.4 Réactif pour la recherche de l'oxydase ISO 13720:2010

#### 5.4.1 Composition

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84cfe19-a01a-4039-80c7-313245da81e1/iso-13720-2010>

Dichlorhydrate de <i>N,N,N',N'</i> -tétraméthyl- <i>p</i> -phénylènediamine	1,0 g
Eau	100 ml

#### 5.4.2 Préparation

Dissoudre le réactif dans l'eau immédiatement avant utilisation.

Des disques ou des languettes disponibles dans le commerce peuvent être utilisés. Dans ce cas, suivre les recommandations du fabricant.

## 6 Appareillage et verrerie

Matériel courant de laboratoire de microbiologie (voir l'ISO 7218) et, en particulier, ce qui suit.

### 6.1 Appareil pour la stérilisation en chaleur sèche (étuve) ou en chaleur humide (autoclave).

### 6.2 Étuve, pouvant fonctionner à 25 °C ± 1 °C.

---

1) Pour plus d'informations sur les numéros de collection des souches de culture et pour des coordonnées de contact, se reporter au catalogue de souches de référence disponible (2010-07-19) à l'adresse: [http://www.wfcc.nig.ac.jp/WDCM\\_Reference\\_Strain\\_Catalogue](http://www.wfcc.nig.ac.jp/WDCM_Reference_Strain_Catalogue).

- 6.3 Bain d'eau**, pouvant fonctionner à  $47\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ .
- 6.4 pH mètre**, pouvant mesurer avec une précision de  $\pm 0,05$  unité pH.
- 6.5 Anses bouclées** en platine iridié ou anses bouclées stériles à usage unique équivalentes.
- 6.6 Tubes à essai, bouteilles ou flacons**, de capacités appropriées.
- 6.7 Pipettes à écoulement total**, stériles, d'une capacité nominale de 1 ml, graduées en divisions de 0,1 ml, ISO 835<sup>[1]</sup>, classe A, ou pipettes automatiques, ISO 8655-2<sup>[2]</sup>, utilisant des embouts stériles.
- 6.8 Boîtes de Petri**, en verre ou en plastique, de 90 mm à 100 mm de diamètre.
- 6.9 Étaleurs**, en verre ou en plastique, par exemple baguettes en verre en forme de crosse de hockey d'environ 3,5 mm de diamètre, de 200 mm de longueur, coudées à angle droit à 30 mm environ d'une des extrémités et dont les bords de coupe ont été régularisés par chauffage.

## 7 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. S'il n'existe pas de Norme internationale spécifique traitant de l'échantillonnage du produit concerné, il est recommandé que les parties concernées parviennent à un accord sur ce sujet.

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport ou du stockage (voir l'ISO 7218).

(standards.iteh.ai)

## 8 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai conformément à l'ISO 6887-1 et à l'ISO 6887-2 et/ou à la Norme internationale spécifique appropriée pour le produit concerné. S'il n'existe pas de Norme internationale spécifique, il est recommandé que les parties concernées parviennent à un accord sur ce sujet.

## 9 Mode opératoire

### 9.1 Prise d'essai, suspension mère et dilutions

Préparer la suspension mère et les dilutions conformément à l'ISO 6887-2.

### 9.2 Ensemencement et incubation

**9.2.1** Conformément à l'ISO 7218, une boîte par dilution doit être utilisée avec au moins deux dilutions successives. Si une seule dilution est réalisée, deux boîtes doivent alors être utilisées.

**9.2.2** Prendre une boîte de gélose CFC (5.3.4). À l'aide d'une pipette (6.7), transférer 0,1 ml de la suspension mère dans la boîte.

Prendre une autre boîte de gélose CFC. À l'aide d'une autre pipette stérile, transférer 0,1 ml de la première dilution décimale de la suspension mère dans la boîte.

Répéter ces opérations avec les dilutions suivantes, en utilisant une pipette stérile propre pour chaque dilution décimale.

**9.2.3** Répartir le liquide sur la surface de la boîte gélosée avec un étaleur stérile (6.9) jusqu'à ce que la surface soit complètement sèche.