
**Lait et produits laitiers — Méthode de
dénombrement des *Pseudomonas* spp.**

*Milk and milk products — Method for the enumeration of Pseudomonas
spp.*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO/TS 11059:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d61cd482-6761-46b1-9f4a-2e7d9d32092a/iso-ts-11059-2009)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d61cd482-6761-46b1-9f4a-
2e7d9d32092a/iso-ts-11059-2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d61cd482-6761-46b1-9f4a-2e7d9d32092a/iso-ts-11059-2009)



Numéros de référence
ISO/TS 11059:2009(F)
FIL/MR 225:2009(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/TS 11059:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d61cd482-6761-46b1-9f4a-2e7d9d32092a/iso-ts-11059-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d61cd482-6761-46b1-9f4a-2e7d9d32092a/iso-ts-11059-2009>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO et FIL 2009

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'une ou l'autre des adresses 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

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.

Dans d'autres circonstances, en particulier lorsqu'il existe une demande urgente du marché, un comité technique peut décider de publier d'autres types de documents:

- une Spécification publiquement disponible ISO (ISO/PAS) représente un accord entre les experts dans un groupe de travail ISO et est acceptée pour publication si elle est approuvée par plus de 50 % des membres votants du comité dont relève le groupe de travail;
- une Spécification technique ISO (ISO/TS) représente un accord entre les membres d'un comité technique et est acceptée pour publication si elle est approuvée par 2/3 des membres votants du comité.

Une ISO/PAS ou ISO/TS fait l'objet d'un examen après trois ans afin de décider si elle est confirmée pour trois nouvelles années, révisée pour devenir une Norme internationale, ou annulée. Lorsqu'une ISO/PAS ou ISO/TS a été confirmée, elle fait l'objet d'un nouvel examen après trois ans qui décidera soit de sa transformation en Norme internationale soit de son annulation.

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/TS 11059|FIL/MR 225 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.

Avant-propos

La **FIL (Fédération Internationale de Laiterie)** est une organisation sans but lucratif représentant le secteur laitier mondial. Les membres de la FIL se composent des Comités Nationaux dans chaque pays membre et des associations laitières régionales avec lesquelles la FIL a signé des accords de coopération. Tout membre de la FIL 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.

La tâche principale des comités techniques est de préparer les Normes internationales. Les Normes internationales provisoires adoptées par les groupes de travail et le Comités Permanents sont circulés aux Comités nationaux pour approbation. La publication en tant que Norme internationale requiert l'approbation d'au moins 50 % des Comité Nationaux de la FIL participant au vote.

Dans d'autres circonstances, particulièrement quand une demande urgente du marché survient pour de tels documents, un Comité permanent peut décider de publier un autre type de document à valeur de norme que la FIL appelle *Méthode révisée*. Une telle méthode illustre un consensus entre les membres d'un Comité permanent et est acceptée pour publication si elle est approuvée par au moins 50 % des Comités Nationaux émettant un vote. Une *Méthode révisée* est équivalente à une ISO/PAS ou à une ISO/TS et sera donc aussi publiée conjointement selon les conditions ISO.

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/TS 11059|FIL/MR 225 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 l'ISO et la FIL.

L'ensemble des travaux a été confié à l'Équipe d'Action mixte ISO/FIL, *Harmonisation microbiologique*, du Comité permanent, *Méthodes microbiologiques d'analyse*, sous la conduite de son chef de projet, Mme P. Rollier (FR).

Lait et produits laitiers — Méthode de dénombrement des *Pseudomonas* spp.

1 Domaine d'application

La présente Spécification technique décrit une méthode de dénombrement des *Pseudomonas* spp. dans le lait et les produits laitiers. Cette méthode permet d'isoler tous les *Pseudomonas* spp. psychrophiles pigmentés et non pigmentés.

La présente Spécification technique s'applique également à des échantillons d'environnement du secteur laitier.

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 de la publication à laquelle il est fait référence (y compris tous les amendements) s'applique.

ISO 6887-5, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 5: Règles spécifiques pour la préparation de produits laitiers*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d61cd482-6761-46b1-9f4a-2e7d9d32092a/iso-ts-11059-2009>

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.**

bactérie du genre *Pseudomonas* qui forme des colonies sur gélose à la pénicilline et à la pimarcine (PPA) à 25 °C en présentant les caractéristiques biochimiques décrites, lorsqu'elle est soumise à essai comme décrit dans la présente Spécification technique

4 Principe

La surface d'un milieu de culture sélectif solide est inoculé avec une quantité spécifiée de l'échantillon pour essai si le produit est liquide, ou avec une quantité spécifiée de la suspension mère dans le cas des autres produits. L'inoculation est effectuée dans les mêmes conditions, en utilisant des dilutions décimales de l'échantillon pour essai ou de la suspension mère.

Les boîtes sont incubées en aérobiose à 25 °C pendant 48 h.

Le nombre de *Pseudomonas* est calculé par millilitre ou par gramme d'échantillon, à partir du nombre de colonies obtenu sur les boîtes à des niveaux de dilution choisis permettant d'obtenir un résultat significatif, et après confirmation des colonies sélectionnées par le test oxydase et le test de fermentation du glucose.

5 Diluant, milieux de culture et réactif

5.1 Généralités

Pour les pratiques courantes de laboratoire, voir l'ISO/TS 11133-1 et l'ISO/TS 11133-2.

5.2 Diluant

Voir l'ISO 6887-5.

5.3 Gélose à la pénicilline et à la pimarcicine (PPA)

5.3.1 Milieu de base

5.3.1.1 Composition

ISO/TS 11059:2009

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

^a En fonction du pouvoir géifiant de l'agar-agar.

5.3.1.2 Préparation

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en portant à ébullition. Si nécessaire, ajuster le pH de manière qu'il soit de $7,2 \pm 0,2$ à 25 °C après stérilisation. Répartir le milieu de base dans des fioles ou des flacons de capacité appropriée. Stériliser le milieu à l'autoclave (6.1) à 121 °C pendant 15 min.

5.3.2 Solutions d'inhibiteurs

5.3.2.1 Solution de pénicilline

5.3.2.1.1 Composition

Composant	Quantité
Pénicilline G potassique	10 ⁶ UI
Eau	10 ml

5.3.2.1.2 Préparation

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

La solution de pénicilline peut être conservée à (5 ± 3) °C pendant une semaine ou congelée en parties aliquotes à -20 °C pendant 6 mois.

5.3.2.2 Solution de pimarcine

5.3.2.2.1 Composition

Composant	Quantité
Pimarcine (natamycine)	0,1 g
Eau	10 ml

iTeh STANDARD PREVIEW
 (standards.iteh.ai)

[ISO/TS 11059:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d61cd482-6761-46b1-9f4a-2e7d9d32092a/iso-ts-11059-2009)

5.3.2.2.2 Préparation

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d61cd482-6761-46b1-9f4a-2e7d9d32092a/iso-ts-11059-2009>

Dissoudre la pimarcine dans l'eau. Stériliser la solution à l'autoclave (6.1) à 110 °C pendant 20 min.

La pimarcine en solution n'est pas stable et doit être protégée de la lumière. Par conséquent, utiliser la pimarcine en solution le jour de sa préparation. La solution peut également être conservée congelée en parties aliquotes à -20 °C pendant 6 mois.

5.3.3 Milieu complet

5.3.3.1 Composition

Volume	Concentration finale
Milieu de base: 100 ml	—
Solution de pénicilline 0,1 ml	100 000 UI/l
Solution de pimarcine 0,1 ml	0,01 g/l

5.3.3.2 Préparation

En conditions aseptiques, ajouter les solutions d'inhibiteurs au milieu de base, en surfusion et maintenues à une température comprise entre 44 °C et 47 °C. Homogénéiser soigneusement le milieu complet ainsi préparé.

5.3.4 Préparation des boîtes de gélose PPA

Pour la préparation et le séchage des boîtes, voir l'ISO/TS 11133-1. Si les boîtes de gélose sont préparées à l'avance, elles peuvent être conservées dans l'obscurité à $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ pendant 1 jour au maximum.

5.3.5 Essais de performance pour le contrôle qualité

5.3.5.1 Productivité

Incubation:	À $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ pendant (48 ± 2) h
Souche:	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 13525 ou <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
Milieu de référence:	Gélose trypticase soja (TSA)
Méthode de contrôle:	Quantitative
Critères:	Rapport de productivité $P_R > 0,5$ et colonies non caractéristiques

5.3.5.2 Sélectivité

Incubation:	À $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ pendant (48 ± 2) h
Souche:	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ou <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
Méthode de contrôle:	Qualitative
Critères:	Inhibition totale

ISO/TS 11059:2009
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d61cd482-6761-46b1-9f4a-2e7d9d32092a/iso-ts-11059-2009>

5.4 Gélose nutritive

5.4.1 Composition

Composant	Quantité
Extrait de viande	3,0 g
Digestat enzymatique de tissus animaux	5,0 g
Agar-agar	12,0 g à 18,0 g ^a
Eau	1 000 ml
^a En fonction du pouvoir gélifiant de l'agar-agar.	

5.4.2 Préparation

Dissoudre les composants déshydratés ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en portant à ébullition. Si nécessaire, ajuster le pH de manière qu'il soit de $7,0 \pm 0,2$ à $25 ^\circ\text{C}$ après stérilisation. Répartir le milieu de culture dans des tubes ou des flacons de capacité appropriée. Stériliser la gélose nutritive à l'autoclave (6.1) à $121 ^\circ\text{C}$ pendant 15 min.

5.4.3 Préparation des boîtes de gélose nutritive

Pour la préparation, le séchage et la conservation des boîtes, voir l'ISO/TS 11133-1.

5.4.4 Essais de performance pour le contrôle qualité

Des précisions relatives à la productivité sont données ci-après.

Incubation:	À (25 ± 1) °C pendant (24 ± 2) h
Souche:	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 13525 ou <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ou <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
Milieu de référence:	Gélose trypticase soja (TSA)
Méthode de contrôle:	Quantitative
Critères:	Rapport de productivité $P_R > 0,7$ et colonies non caractéristiques

5.5 Gélose glucosée

5.5.1 Composition

Composant	Quantité
Digestat enzymatique de caséine	10,0 g
Extrait de levure	1,5 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Glucose	10,0 g
Pourpre de bromocrésol	0,015 g
Agar-agar	12,0 g à 18,0 g ^a
Eau	1 000 ml

^a En fonction du pouvoir gélifiant de l'agar-agar.

5.5.2 Préparation

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en chauffant si nécessaire. Si nécessaire, ajuster le pH de manière qu'il soit de $7,0 \pm 0,2$ à 25 °C après stérilisation.

Répartir le milieu par quantités de 10 ml dans des tubes à essais (6.5). Stériliser la gélose glucosée à l'autoclave (6.1) à 121 °C pendant 15 min. Laisser les tubes en position verticale.

Juste avant utilisation, chauffer dans un bain d'eau bouillante ou sous un courant de vapeur pendant 15 min. Puis refroidir rapidement à la température d'incubation.

5.5.3 Essais de performance pour le contrôle qualité

5.5.3.1 Test positif

Incubation:	À (25 ± 1) °C pendant (24 ± 2) h
Souche:	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Méthode de contrôle:	Qualitative
Critères:	Positif