

---

---

**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  
du lait et des produits laitiers**

(standards.iteh.ai)

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test  
samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological  
examination —*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fefc892c-fbcb-410d-8ebf-0113887-5.2010>

*Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products*



**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 6887-5:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fefc892c-fbcb-410d-8ebf-078d58d3ab91/iso-6887-5-2010>



**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

## Sommaire

Page

Avant-propos .....	iv
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Références normatives</b> .....	2
3 <b>Termes et définitions</b> .....	2
4 <b>Principe</b> .....	2
5 <b>Diluants</b> .....	3
6 <b>Appareillage</b> .....	7
7 <b>Préparation des échantillons</b> .....	8
7.1 <b>Produits congelés</b> .....	8
7.2 <b>Produits durs et secs</b> .....	8
7.3 <b>Produits liquides et non visqueux</b> .....	8
7.4 <b>Produits hétérogènes</b> .....	8
8 <b>Modes opératoires généraux</b> .....	8
8.1 <b>Généralités</b> .....	8
8.2 <b>Échantillonnage</b> .....	8
8.3 <b>Cas général des produits acides</b> .....	9
8.4 <b>Aliments à forte teneur en matières grasses (teneur en matières grasses &gt; 20 % en fraction massique)</b> .....	9
9 <b>Modes opératoires spécifiques</b> .....	9
9.1 <b>Lait et produits laitiers liquides</b> .....	9
9.2 <b>Lait sec, poudre de lactosérum doux, poudre de lactosérum acide, babeurre en poudre et lactose</b> .....	9
9.3 <b>Fromage et fromage fondu</b> .....	10
9.4 <b>Caséine acide, caséine lactique, caséine présure et caséinates</b> .....	10
9.5 <b>Beurre</b> .....	11
9.6 <b>Crème glacée</b> .....	12
9.7 <b>Crème anglaise, desserts et crème douce (pH &gt; 5)</b> .....	12
9.8 <b>Lait fermenté et crème acide (pH &lt; 5)</b> .....	12
9.9 <b>Aliments à base de lait pour nourrissons</b> .....	12
10 <b>Dilutions décimales suivantes</b> .....	13
Bibliographie.....	14

## 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 6887-5 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

Cette première édition annule et remplace l'ISO 8261 | FIL 122:2001, qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 8261 | FIL 122:2001 a été élaborée par l'ISO/TC 34/SC 5, *Lait et produits laitiers* et, avec son accord, a été renumérotée en ISO 6887-5 et techniquement révisée par l'ISO/TC 34/SC 9 avec les modifications suivantes:

- a) l'introduction de l'eau peptonée tamponnée en tant que diluant d'usage général;
- b) le préchauffage systématique du diluant n'a été maintenu que dans les cas où il peut résoudre des problèmes d'homogénéité de la suspension;
- c) l'étape de réactivation a été supprimée.

L'ISO 6887 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *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*
- *Partie 2: Règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits à base de viande*
- *Partie 3: Règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche*
- *Partie 4: Règles spécifiques pour la préparation de produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche*
- *Partie 5: Règles spécifiques pour la préparation du lait et des produits laitiers*

La partie suivante est en cours de préparation:

- *Partie 6: Règles spécifiques pour la préparation d'échantillons de production primaire*

# 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 du lait et des produits laitiers

**AVERTISSEMENT** — L'utilisation de la présente Norme internationale peut impliquer l'utilisation de produits et la mise en œuvre de modes opératoires et d'appareillages à caractère dangereux. Il incombe à l'utilisateur d'établir, avant de l'utiliser, des pratiques d'hygiène et de sécurité appropriées et de déterminer l'applicabilité des restrictions réglementaires.

### 1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 6887 spécifie les règles de préparation des échantillons de lait et de produits laitiers et de leur mise en suspension en vue d'un examen microbiologique lorsque les échantillons nécessitent une préparation différente des méthodes générales spécifiées dans l'ISO 6887-1. L'ISO 6887-1 définit des règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.

La présente partie de l'ISO 6887 exclut la préparation des échantillons pour les méthodes d'essai de dénombrement et de détection où des détails de préparation sont spécifiés dans les Normes internationales appropriées.

La présente partie de l'ISO 6887 est applicable:

- a) au lait et aux produits laitiers liquides;
- b) aux produits laitiers en poudre;
- c) au fromage;
- d) à la caséine et aux caséinates;
- e) au beurre;
- f) aux crèmes glacées;
- g) à la crème anglaise, aux desserts et à la crème douce;
- h) au lait fermenté et à la crème acide;
- i) aux aliments à base de lait pour nourrissons.

## 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 707 | FIL 50, *Lait et produits laitiers — Lignes directrices pour l'échantillonnage*

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

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

#### **échantillon pour laboratoire**

échantillon préparé pour être envoyé au laboratoire et destiné aux essais ou inspections

NOTE Adapté de l'ISO 7002:1986<sup>[1]</sup>, A.15.

### 3.2

#### **prise d'essai**

(microbiologie) échantillon représentatif mesuré en volume ou en masse, prélevé sur l'échantillon pour laboratoire pour servir à la préparation de la suspension mère

### 3.3

#### **suspension mère**

#### **première dilution**

suspension, solution ou émulsion obtenue après avoir utilisé un mélangeur et pris les précautions appropriées pour mélanger, si nécessaire, une quantité pesée ou mesurée du produit à analyser (ou de l'échantillon pour essai préparé à partir de ce produit) avec une quantité de fluide de dilution (diluant) égale à neuf fois cette quantité de produit, en laissant se déposer les particules grossières, s'il y en a

NOTE 1 Pour les précautions appropriées, voir 8.1.

NOTE 2 Pour des détails sur les diluants, voir l'Article 5.

### 3.4

#### **dilutions décimales suivantes**

suspension, solution ou émulsion obtenue en mélangeant un volume spécifique de la première dilution (3.3) avec une quantité de diluant égale à neuf fois cette quantité de produit et en répétant cette opération sur chaque dilution préparée de la sorte, jusqu'à obtention d'une gamme de dilutions décimales, appropriée pour l'ensemencement des milieux de culture

## 4 Principe

Préparation de la suspension mère (3.3) de façon à obtenir une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes contenus dans l'échantillon pour essai.

Préparation, si nécessaire, de dilutions décimales suivantes (3.4) en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume pour permettre, après incubation, d'observer leur éventuel développement (cas des milieux liquides) ou d'observer les colonies (cas des boîtes de gélose), comme indiqué dans chaque Norme internationale concernée.

Pour restreindre, si nécessaire, le domaine de dénombrement à un intervalle donné, ou si des nombres élevés de micro-organismes sont attendus, il est possible d'ensemencer uniquement les dilutions décimales nécessaires (au moins deux dilutions successives) pour pouvoir effectuer le dénombrement selon le mode de calcul spécifié dans l'ISO 7218.

## 5 Diluants

Au cours de l'analyse, sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et uniquement de l'eau distillée ou déionisée stérilisée.

### 5.1 Composants de base.

Voir l'ISO 6887-1.

### 5.2 Diluants à usage général.

#### 5.2.1 Solution de peptone-sel.

##### 5.2.1.1 Composition.

Digestat enzymatique de caséine	1,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	8,5 g
Eau	1 000 ml

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fefc892c-fbcb-410d-8ebf-078d58d3ab91/iso-6887-5-2010>

##### 5.2.1.2 Préparation.

Dissoudre les composants dans l'eau en chauffant légèrement, si nécessaire, sur une plaque chauffante (6.6). Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de  $7,0 \pm 0,2$  à  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### 5.2.2 Solution de Ringer diluée au quart.

##### 5.2.2.1 Composition.

Chlorure de sodium (NaCl)	2,25 g
Chlorure de potassium (KCl)	0,105 g
Chlorure de calcium, anhydre ( $\text{CaCl}_2$ )	0,06 g <sup>a</sup>
Hydrogénocarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ )	0,05 g
Eau	1 000 ml
<sup>a</sup> En alternative, utiliser 0,12 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .	

##### 5.2.2.2 Préparation.

Dissoudre les sels dans l'eau. Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de  $6,9 \pm 0,2$  à  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### 5.2.3 Solution de peptone.

##### 5.2.3.1 Composition.

## ISO 6887-5:2010(F)

Digestat enzymatique de caséine	1,0 g
Eau	1 000 ml

### 5.2.3.2 Préparation.

Dissoudre la peptone dans l'eau. Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de  $7,0 \pm 0,2$  à  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### 5.2.4 Solution tampon phosphate.

#### 5.2.4.1 Composition.

Dihydrogénophosphate de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	42,5 g
Eau	1 000 ml

#### 5.2.4.2 Préparation.

Dissoudre le sel dans 500 ml d'eau. Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de  $7,2 \pm 0,2$  à  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Diluer à 1 000 ml avec l'eau restante.

Conserver la solution mère au réfrigérateur.

Ajouter 1 ml de cette solution mère à 1 000 ml d'eau pour utilisation en tant que diluant.

### 5.2.5 Eau peptonée tamponnée.

(standards.iteh.ai)

#### 5.2.5.1 Composition.

ISO 6887-5:2010

Digestat enzymatique de tissus animaux	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Hydrogénophosphate disodique dodécahydraté ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12\text{H}_2\text{O}$ )	9,0 g <sup>a</sup>
Dihydrogénophosphate de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	1,5 g
Eau	1 000 ml
<sup>a</sup> En alternative, utiliser 3,56 g d'hydrogénophosphate disodique anhydre ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ).	

#### 5.2.5.2 Préparation.

Dissoudre les composants dans l'eau en chauffant légèrement, si nécessaire, sur une plaque chauffante (6.6). Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de  $7,0 \pm 0,2$  à  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### 5.2.5.3 Application.

Ce diluant est recommandé en particulier pour la détection de *Salmonella* spp. ou le dénombrement de *Listeria monocytogenes*, mais peut également être utilisé pour la préparation de suspensions mères pour d'autres analyses.

### 5.3 Diluants pour des besoins particuliers.

Ces diluants ne doivent être utilisés que pour la préparation de suspensions mères.

#### 5.3.1 Solution de citrate de sodium.

##### 5.3.1.1 Composition.



Citrate trisodique dihydraté ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7, 2\text{H}_2\text{O}$ )	20,0 g
Eau	1 000 ml

### 5.3.1.2 Préparation.

Dissoudre le sel dans de l'eau en chauffant, si nécessaire, sur une plaque chauffante (6.6) à une température comprise entre 45 °C et 50 °C. Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de  $7,5 \pm 0,2$  à 25 °C.

### 5.3.1.3 Application.

Cette solution est utilisée pour le fromage et le lait en poudre Hatmaker, et certains caséinates.

## 5.3.2 Solution d'hydrogénophosphate dipotassique.

### 5.3.2.1 Composition.

Hydrogénophosphate dipotassique ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	20,0 g
Eau	1 000 ml

### 5.3.2.2 Préparation.

Dissoudre le sel dans de l'eau en chauffant, si nécessaire, sur une plaque chauffante (6.6) à une température comprise entre 45 °C et 50 °C. Pour la poudre de lactosérum acide, ajuster le pH de sorte que, pour la première dilution après stérilisation, il soit de  $8,4 \pm 0,2$  à 25 °C. Pour le fromage, le lait en poudre Hatmaker, le lait fermenté, les caséinates et la crème acide, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de  $7,5 \pm 0,2$  à 25 °C.

[ISO 6887-5:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fefc892c-fbcb-410d-8ebf-078d58d3ab91/iso-6887-5-2010)

### 5.3.2.3 Application: <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/fefc892c-fbcb-410d-8ebf-078d58d3ab91/iso-6887-5-2010>

Cette solution est utilisée pour le fromage, le lait en poudre Hatmaker, le lait fermenté, certains caséinates, le lactosérum acide et la crème acide.

## 5.3.3 Solution d'hydrogénophosphate dipotassique avec agent antimoussant.

### 5.3.3.1 Solution d'hydrogénophosphate dipotassique.

#### 5.3.3.1.1 Composition.

Hydrogénophosphate dipotassique ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	20,0 g
Eau	1 000 ml

#### 5.3.3.1.2 Préparation.

Dissoudre l'hydrogénophosphate dipotassique dans de l'eau en chauffant, si nécessaire, sur une plaque chauffante (6.6) à une température comprise entre 45 °C et 50 °C.

### 5.3.3.2 Solution concentrée d'agent antimoussant.

#### 5.3.3.2.1 Composition.

Polyéthylène glycol 2000	1 g
Eau	100 ml

**5.3.3.2.2 Préparation.**

Dissoudre le polyéthylène glycol 2000 dans l'eau en mélangeant.

**5.3.3.3 Préparation.**

Ajouter 1 ml de la solution concentrée d'agent anti-moussant (5.3.3.2) à 1 l de la solution de  $K_2HPO_4$  (5.3.3.1). Ajuster le pH de sorte qu'aussi bien pour la première dilution de la caséine acide que pour celle de la caséine lactique, il soit de  $8,4 \pm 0,2$  à 25 °C après stérilisation, et pour la caséine présure il soit de  $7,5 \pm 0,2$  à 25 °C après stérilisation.

**5.3.3.4 Application.**

Cette solution est utilisée pour la caséine acide, la caséine lactique et les caséines présures.

**5.3.4 Solution de tripolyphosphate.**

**5.3.4.1 Composition.**

Tripolyphosphate de sodium ( $Na_5O_{10}P_3$ )	20,0 g
Eau	1 000 ml

**5.3.4.2 Préparation.**

Dissoudre le sel dans l'eau en chauffant légèrement sur une plaque chauffante (6.6), si nécessaire. Verser la solution de tripolyphosphate dans des flacons à raison de 90 ml et les stériliser. Le milieu peut être conservé à une température de  $5 \text{ °C} \pm 3 \text{ °C}$  pendant 1 mois au plus.

**5.3.4.3 Application.**

Cette solution est utilisée comme autre diluant pour les caséines présures qui sont difficiles à dissoudre.

**5.3.5 Diluant à usage général avec une solution d' $\alpha$ -amylase.**

**5.3.5.1 Préparation.**

Ajouter 12,5 mg d' $\alpha$ -amylase (EC 3.2.1.1, voir la Référence [3]) ayant une activité spécifique d'approximativement 400 unités<sup>1)</sup> par milligramme pour 225 ml du diluant d'usage général (voir 5.2). Ce diluant est utilisé pour 25 g de prise d'essai. Utiliser des quantités dans la même proportion pour la préparation d'autres prises d'essai (par exemple pour une prise d'essai de 10 g, ajouter 5 mg d' $\alpha$ -amylase à 90 ml du diluant à usage général).

**5.3.5.2 Application.**

Cette solution est utilisée pour des aliments contenant de l'amidon.

**5.3.6 Eau peptonée tamponnée avec pourpre de bromocrésol.**

**5.3.6.1 Composition.**

Eau peptonée tamponnée (voir 5.2.5)	1 000 ml
Pourpre de bromocrésol (à 4 % dans une solution d'alcool, par exemple une solution d'éthanol)	0,1 ml

1) Cette unité (souvent appelée Unité internationale ou Unité standard) est définie comme étant la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation de 1  $\mu$ mol de substrat par minute dans des conditions normales.

**5.3.6.2 Préparation.**

Ajouter 0,1 ml de solution de pourpre de bromocrésol à 1 000 ml d'eau peptonée tamponnée (5.2.5).

**5.3.6.3 Application.**

Cette solution peut être utilisée dans certains produits acides de sorte que l'ajustement du pH peut être réalisé sans utiliser une sonde de pH stérile (voir 8.3).

Le pourpre de bromocrésol est jaune à un pH acide, virant au violet à un pH supérieur à 6,8.

**5.4 Répartition et stérilisation du diluant.**

Voir l'ISO 6887-1.

**5.5 Essai de performance pour le contrôle de qualité.**

Procéder au contrôle de qualité pour tous les diluants inclus dans la présente partie de l'ISO 6887 comme spécifié pour la solution de peptone-sel dans l'ISO/TS 11133-2.

Incubation:	45 min à une température de 20 °C à 25 °C
Souches de contrôle:	<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013 <sup>a,2)</sup> ou WDCM 00012 <sup>a,2)</sup> <i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034 <sup>2)</sup>
Milieu de contrôle:	TSA à 37 °C ± 1 °C pendant 24 h ± 2 h
Méthode de contrôle:	Quantitative
Critères:	± 50 % de la numération à $t_0$
<sup>a</sup> Souches à utiliser par le laboratoire utilisateur (au minimum).	

IT'S STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)  
ISO 6887-5:2010  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6cf692c-fcb-410d-8cbf-078d58d3ab91/iso-6887-5-2010>

**6 Appareillage**

Matériel courant de laboratoire de microbiologie à usage général (voir l'ISO 7218 et l'ISO 6887-1) et, en particulier, ce qui suit.

**6.1 Mélangeur rotatif ou péristaltique.****6.2 Agitateur Vortex.****6.3 Billes en verre**, de diamètre environ 6 mm.**6.4 Bains d'eau**, capables de maintenir des températures de 37 °C ± 1 °C et de 45 °C ± 1 °C.**6.5 Spatules ou baguettes en verre.****6.6 Plaque chauffante** ou autre appareil, permettant un chauffage doux (pas de brûleurs à gaz), et permettant de fonctionner à la température requise.

2) 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).