

Troisième édition
2007-08-15

AMENDEMENT 1
2013-08-01

Version corrigée
2014-04-15

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

AMENDEMENT 1

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements
and guidance for microbiological examinations*

AMENDMENT 1

ITeK Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 7218:2007/Amd 1:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/69cd73fc-7220-4631-80c4-2f4c8e512f9a/iso-7218-2007-amd-1-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/69cd73fc-7220-4631-80c4-2f4c8e512f9a/iso-7218-2007-amd-1-2013>



Numéro de référence
ISO 7218:2007/Amd.1:2013(F)

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 7218:2007/Amd 1:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/69cd73fc-7220-4631-80c4-2f4c8e512f9a/iso-7218-2007-amd-1-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/69cd73fc-7220-4631-80c4-2f4c8e512f9a/iso-7218-2007-amd-1-2013>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2013

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
Web 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 procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/CEI, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2, www.iso.org/directives.

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou sur la liste ISO des déclarations de brevets reçus, www.iso.org/brevets.

Les éventuelles appellations commerciales utilisées dans le présent document sont données pour information à l'intention des utilisateurs et ne constituent pas une approbation ou une recommandation.

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

La présente version corrigée de l'ISO 7218:2007/Amd.1:2013 inclut la correction des valeurs dans les Tableaux C.5, C.6 et C.7, c'est à dire les [7218:2007/Amd 1:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/69cd73fc-7220-4631-80c4-2f4c8e512f9a/iso-7218-2007-amd-1-2013)

- colonnes quatre, cinq, six, sept et huit du Tableau C.5,
- colonnes quatre, cinq, six, sept, huit et neuf du Tableau C.6, et
- colonnes quatre et neuf du Tableau C.7.

Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations

AMENDEMENT 1

Pages 1 et 2, Article 2

Supprimer l'ISO 8261. Elle a été remplacée par l'ISO 6887-5 [déjà incluse dans «ISO 6887 (toutes les parties)»].

Supprimer les références «ISO 835 (toutes les parties)», «ISO 8655-1», «ISO/TS 11333 (toutes les parties)» et «ISO 16140» et ajouter les références suivantes.

ISO 835, *Verrerie de laboratoire — Pipettes graduées*

ISO 8655 (toutes les parties), *Appareils volumétriques à piston*

ISO/TS 11133 (toutes les parties), *Microbiologie des aliments — Guide pour la préparation et la production des milieux de culture*

ISO 16140-2, *Microbiologie des aliments — Validation des méthodes — Partie 2: Protocole pour la validation de méthodes alternatives (brevetées) par rapport à une méthode de référence*

Pages 7 à 32, Articles 5 et 6

Supprimer le texte existant et ajouter ce qui suit.

5 Appareillage et matériel

5.1 Généralités

Conformément à la bonne pratique de laboratoire, il est recommandé que tous les appareils et matériel soient propres et en bon état de fonctionnement. Avant utilisation, il est recommandé de vérifier que le matériel est adapté à la finalité prévue et de contrôler ses performances lors de son utilisation, le cas échéant.

Si nécessaire, il est recommandé d'étalonner le matériel et les dispositifs de surveillance à l'aide d'étalons nationaux identifiés et de procéder au réétalonnage et à toutes vérifications intermédiaires avec des modes opératoires et des résultats documentés.

Il est recommandé de vérifier et d'entretenir régulièrement le matériel afin de garantir son aptitude à l'emploi et la sécurité. Il est recommandé de contrôler le matériel en fonction des conditions d'utilisation et de l'exactitude exigée par les résultats.

Dans la plupart des cas, la fréquence d'étalonnage et de vérification de chaque pièce d'équipement n'est pas mentionnée dans la présente Norme internationale, étant donné que cette fréquence doit être déterminée par chaque laboratoire en fonction du type d'équipement, du niveau d'activité du laboratoire, ainsi que des instructions du fabricant. Dans certains cas, et lorsqu'elle est considérée comme essentielle, la fréquence a été spécifiée.

L'appareillage et le matériel doivent être construits et installés de sorte à faciliter leur utilisation, entretien, nettoyage, décontamination et étalonnage.

Toutes les incertitudes de mesure données dans le présent article correspondent à l'appareillage et à l'équipement concernés, et non pas à l'ensemble de la méthode d'analyse.

Dans l'ensemble de cet article, des recommandations pour l'exactitude de l'appareillage de mesure sont données. Celles-ci sont basées sur l'erreur pratique tolérée recommandée pour démontrer le contrôle approprié du matériel de routine. L'exactitude indiquée est liée à l'incertitude métrologique du dispositif (se référer au Guide ISO/CEI 99).

Pour le matériel possédant un contrôle de la température, vérifier la stabilité et l'homogénéité de la température avant l'utilisation initiale et après toute réparation ou modification qui pourrait avoir un effet sur le contrôle de la température.

5.2 Hottes de sécurité

5.2.1 Description

Une hotte de sécurité est un poste de travail à écoulement d'air laminaire horizontal ou vertical conçu pour retirer de l'air la poussière et les autres particules, tels que les micro-organismes.

Le nombre maximal admissible de particules de dimension supérieure ou égale à 0,5 µm par mètre cube correspond à la classe d'empoussièrement d'une hotte de sécurité. Pour les hottes utilisées en microbiologie alimentaire, le nombre de particules ne doit pas dépasser 4 000 par mètre cube.

Les hottes utilisées dans les laboratoires de microbiologie alimentaire sont de quatre types.

- a) Les hottes de sécurité biologique de classe I sont des hottes ouvertes sur le devant avec évacuation de l'air, destinées à la protection de l'opérateur et de l'environnement mais qui ne protègent pas le produit d'une contamination par l'environnement. Les aérosols potentiellement infectés sont contenus dans la hotte et retenus sur le filtre par impaction. Généralement, l'air filtré est évacué dans l'atmosphère; si ce n'est pas le cas, l'air doit passer à travers deux filtres HEPA (haute efficacité pour les particules de l'air) montés en série. Lorsque les travaux impliquent des agents pathogènes appartenant au groupe de risque 3, il est déconseillé d'utiliser ces hottes, en raison des difficultés à assurer la protection de l'opérateur.
- b) Les hottes de sécurité biologique de classe II protègent le produit, l'opérateur et l'environnement. Elles font recirculer une quantité d'air filtré, évacuent une quantité d'air dans l'atmosphère qui est remplacée par de l'air entrant par l'ouverture de travail, ce qui assure la protection de l'opérateur. Elles conviennent pour un travail effectué avec des agents pathogènes des groupes de risque 2 et 3.
- c) Les hottes à flux d'air laminaire horizontal protègent le travail de la contamination, mais expulsent tout aérosol généré en direction du visage de l'opérateur. Par conséquent, elles ne conviennent pas à la manipulation de culturesensemencées ou à la préparation de cultures tissulaires.
- d) Les hottes à flux d'air laminaire vertical protègent le produit en utilisant le flux d'air laminaire vertical traversant le filtre HEPA. Elles protègent également l'opérateur grâce à la recirculation de l'air à l'intérieur. Elles sont particulièrement indiquées pour créer un environnement aseptique approprié à la manipulation de produits stériles et pour la protection de l'opérateur lors de la manipulation de poudres.

Utiliser des hottes de sécurité pour tout travail impliquant la manipulation d'agents pathogènes et de poudres contaminées, si cela est requis par les réglementations nationales.

L'utilisation d'un brûleur à gaz ou d'un incinérateur à fil n'est pas recommandée dans les hottes de sécurité. Si nécessaire, il est recommandé que le brûleur à gaz produise une petite flamme pour ne pas perturber le flux d'air. L'utilisation de matériel à usage unique (anses, pipettes, etc.) constitue une alternative appropriée.

5.2.2 Utilisation

Utiliser des hottes de sécurité adaptées aux conditions d'utilisation et aux conditions environnementales propres au laboratoire.

Il est recommandé d'utiliser le moins de matériel possible à l'intérieur de la hotte.

Dans la mesure du possible, placer tous les éléments nécessaires à l'intérieur de la hotte avant de commencer le travail, afin de réduire le plus possible les mouvements de bras à l'intérieur et à l'extérieur de l'ouverture de travail. Placer le matériel et les accessoires de sorte à réduire le plus possible les perturbations du flux d'air au niveau de l'ouverture de travail.

Il est recommandé que les opérateurs reçoivent une formation adaptée à l'utilisation correcte des hottes afin de garantir leur sécurité et l'intégrité du produit ou de la culture.

5.2.3 Nettoyage et désinfection

Nettoyer et désinfecter la zone de travail après utilisation à l'aide d'un désinfectant approprié et non corrosif selon les instructions du fabricant. Vérifier régulièrement les grilles de protection des préfiltres, le cas échéant, et les nettoyer avec un tissu imprégné d'un désinfectant.

En ce qui concerne les hottes à flux laminaire, il est recommandé d'aspirer régulièrement la face du filtre en prenant soin de ne pas endommager le matériau filtrant.

Il est recommandé de fumiger les hottes de sécurité avant de procéder au changement ou à l'entretien du filtre.

Après nettoyage des hottes, des lampes à ultraviolets (UV) peuvent être utilisées pour la désinfection. Il est recommandé de nettoyer et de remplacer régulièrement les lampes UV, conformément aux instructions du fabricant. Si elles sont utilisées, il est recommandé de les nettoyer régulièrement afin d'éliminer toute poussière et saleté susceptibles de bloquer l'efficacité de la lumière UV à détruire les micro-organismes. Il est recommandé de vérifier l'intensité de la lumière ultraviolette lorsque la hotte est contrôlée pour assurer que l'émission de lumière est conforme aux instructions du fabricant.

Voir Référence [17].

[ISO 7218:2007/Amd 1:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/69cd73fc-7220-4631-80c4-2f4c8e512f9a/iso-7218-2007-amd-1-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/69cd73fc-7220-4631-80c4-2f4c8e512f9a/iso-7218-2007-amd-1-2013>

5.2.4 Entretien et contrôle

Contrôler l'efficacité d'une hotte de sécurité lors de sa réception puis à intervalles réguliers, selon les recommandations du fabricant, par une personne qualifiée ou certifiée et après toute réparation ou modification. Il est recommandé de contrôler l'efficacité après un déplacement.

Il est recommandé de vérifier périodiquement l'absence de contaminations microbiennes par des contrôles de la surface de la zone de travail et des parois de la hotte.

Il est recommandé de procéder à une vérification périodique du taux de micro-organismes présents dans l'air pendant le fonctionnement des filtres en utilisant l'équipement approprié. Par exemple, exposer plusieurs boîtes de Petri ouvertes contenant un milieu gélosé non sélectif (par exemple PCA) pendant 30 min dans chaque hotte. D'autres méthodes peuvent également être utilisées.

5.3 Balances et diluteurs gravimétriques

5.3.1 Utilisation et incertitude de mesure

Les balances sont principalement utilisées pour peser la prise d'essai de l'échantillon à analyser et les composants des milieux de culture et des réactifs. De plus, elles peuvent être utilisées pour peser la quantité de diluant nécessaire.

Les diluteurs gravimétriques sont des instruments électroniques, constitués d'une balance et d'un répartiteur de liquide programmable. Ils sont utilisés pendant la préparation des suspensions mères des échantillons et fonctionnent en ajoutant du diluant à une prise d'essai selon un rapport défini. La prise d'essai est pesée selon l'erreur tolérée spécifiée par l'application et le diluteur est réglé pour délivrer suffisamment de diluant pour le rapport requis (par exemple 9 à 1 pour les dilutions décimales). Voir l'ISO 6887-1.

Un laboratoire de microbiologie alimentaire doit être équipé de balances adaptées en portée et en incertitude de mesure aux différents produits à peser.

Sauf spécification contraire, il est recommandé que la résolution de la balance permette une erreur de lecture tolérée de 1 %, mais elle doit être suffisante pour permettre une erreur maximale tolérée de 5 % sur la masse.

EXEMPLE Pour peser 10 g, il est recommandé que la balance permette une lecture à 0,1 g près.

Pour peser 1 g, il est recommandé que la balance permette une lecture à 0,01 g près.

Poser le matériel sur un support horizontal stable, ajusté si nécessaire de sorte à garantir une position plane et à le protéger des vibrations et des courants d'air.

5.3.2 Nettoyage et désinfection

Il est recommandé de nettoyer et de désinfecter le matériel après utilisation ou à la suite d'un renversement de matières en cours de pesée, à l'aide d'un désinfectant non corrosif approprié.

5.3.3 Vérification des performances et étalonnage

5.3.3.1 Étalonnage

L'étalonnage doit être vérifié sur l'ensemble du domaine de travail par une personne qualifiée à une fréquence définie en fonction de l'utilisation.

5.3.3.2 Vérification

Les performances du système de pesage doivent être régulièrement vérifiées avec des masses de contrôle et à l'intérieur de la plage d'utilisation, par une personne qualifiée, durant l'utilisation et après le nettoyage.

NOTE Les masses de contrôle peuvent également être vérifiées immédiatement après l'étalonnage de la balance.

5.4 Homogénéisateurs, mélangeurs et mixeurs

5.4.1 Description

Cet appareillage est utilisé pour préparer la suspension mère à partir de l'échantillon pour essai.

Il est possible d'utiliser l'un des appareils suivants:

— un mélangeur de type péristaltique avec des sacs stériles et comportant éventuellement un variateur de vitesse et un minuteur; ou

NOTE Le Stomacher® est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

— un homogénéisateur de type rotatif (blender), dont la vitesse théorique est comprise entre 8 000 r/min et 45 000 r/min, équipé de bols stérilisables munis d'un couvercle; ou

— un homogénéisateur par vibrations avec des sacs stériles; ou

NOTE Le Pulsifier® est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

— un autre système d'homogénéisation d'efficacité équivalente.

Dans certains cas, le mélange manuel peut être réalisé en utilisant des billes de verre stériles de diamètre approprié (environ 6 mm; voir l'ISO 6887-2 à l'ISO 6887-5).

5.4.2 Utilisation

La durée habituelle de fonctionnement d'un homogénéisateur péristaltique est comprise entre 1 min et 3 min lors d'un essai (voir l'ISO 6887-2 à l'ISO 6887-5 pour des aliments spécifiques).

Ne pas utiliser ce type d'appareil pour certains produits alimentaires, tels que:

- les produits risquant d'entraîner des perforations du sac (présence de particules pointues, dures ou sèches);
- les produits difficiles à homogénéiser de par leur texture (par exemple saucisson sec).

L'homogénéisateur rotatif doit fonctionner pendant une durée telle que le nombre total de tours soit compris entre 15 000 r/min et 20 000 r/min inclus. Même avec l'homogénéisateur le plus lent, cette durée ne doit pas dépasser 2,5 min.

Il est possible d'utiliser l'homogénéisateur par vibrations pour la plupart des produits alimentaires, y compris les produits durs ou secs. La durée de fonctionnement habituelle est comprise entre 0,5 min et 1 min. Si des micro-organismes sont susceptibles d'être présents au cœur de structures cohésives, il est recommandé de découper l'échantillon en petits morceaux avant de le traiter.

Les billes de verre peuvent être utilisées pour la préparation, par agitation, des suspensions mères de certains produits visqueux ou épais, notamment certains produits laitiers (voir les normes spécifiques).

5.4.3 Nettoyage et désinfection

Nettoyer et désinfecter régulièrement les homogénéisateurs péristaltiques et les homogénéisateurs par vibrations, ainsi qu'à la suite de tout renversement de matière ou de toute fuite des sacs.

En ce qui concerne les homogénéisateurs rotatifs, nettoyer et stériliser les bols en verre ou en métal après chaque utilisation.

5.4.4 Entretien

Contrôler et entretenir le matériel conformément aux instructions du fabricant.

5.5 pH-mètre

5.5.1 Description

Un pH-mètre est utilisé pour mesurer la différence de potentiel, à une température déterminée, entre une électrode de mesure et une électrode de référence, toutes deux étant introduites dans le produit. Il doit permettre une lecture à 0,01 unité pH près, pour être en mesure de réaliser des mesurages avec une erreur tolérée de $\pm 0,1$ unité pH. Le pH-mètre doit être équipé d'un système de compensation de température soit manuel, soit automatique.

NOTE L'électrode de mesure et l'électrode de référence sont généralement réunies en un système d'électrodes combinées.

5.5.2 Utilisation

Un pH-mètre sert à mesurer la valeur du pH des milieux de culture et des réactifs pour vérifier si un ajustement de cette valeur est nécessaire durant la préparation et fait office de contrôle qualité après la stérilisation.

Il peut également servir à mesurer la valeur du pH des échantillons et des suspensions échantillons. L'utilisation d'un pH-mètre est mentionnée dans la norme spécifique du produit à analyser qui spécifie les conditions de la détermination de la valeur du pH et de l'ajustement de la valeur du pH.

Ajuster le pH-mètre conformément aux indications du manuel du fabricant en vue de procéder à la mesure de la valeur du pH à une température normalisée, par exemple 25 °C. Relever la valeur du pH après stabilisation. Enregistrer la valeur à la seconde décimale près.

NOTE La lecture peut être considérée comme stable lorsque la valeur du pH mesuré sur une période de 5 s ne varie pas de plus de 0,02 unité pH. En utilisant des électrodes en bon état, l'équilibre est normalement atteint dans les 30 s.

5.5.3 Étalonnage et vérification

5.5.3.1 Étalonnage

Étalonner le pH-mètre selon les instructions du fabricant, avec au moins deux, et de préférence trois, solutions tampons étalon au moins chaque jour avant utilisation. Définir les erreurs maximales tolérées pour ces lectures, qui doivent être plus strictes que l'erreur tolérée en utilisation générale.

Il est recommandé que les solutions étalons soient raccordées et la valeur de leur pH doit être spécifiée à la seconde décimale près, à la température de mesure (en général pH 7,00 et pH 4,00 et/ou pH 9,00 à 25 °C, conformément aux instructions du fabricant). Les solutions étalons utilisées doivent encadrer la valeur du pH à mesurer.

5.5.3.2 Vérification

Après l'étalonnage du pH-mètre avec les deux solutions tampons étalon raccordées, il est recommandé d'utiliser une troisième solution tampon étalon pour réaliser une lecture de vérification (en mode «lecture») pour démontrer la fonctionnalité du pH-mètre.

Si les lectures se trouvent en dehors des erreurs maximales tolérées, régler le pH-mètre conformément aux instructions du fabricant. Ce réglage doit être suivi d'un autre étalonnage et d'un autre contrôle.

5.5.4 Entretien

Vérifier et entretenir les électrodes selon les instructions du fabricant. Il est nécessaire, en particulier, de surveiller régulièrement

- le vieillissement et l'encrassement des électrodes; et
- le temps de réponse et la stabilité.

Rincer les électrodes avec de l'eau distillée ou déionisée après chaque utilisation. Pour prévenir l'encrassement et le vieillissement des électrodes, les nettoyer soigneusement et régulièrement, conformément aux instructions du fabricant.

Conserver les électrodes selon les instructions du fabricant.

5.6 Autoclave

5.6.1 Description

Un autoclave permet d'obtenir une température en vapeur saturée dans la chambre.

Il est recommandé que l'autoclave soit muni

- d'au moins une soupape de sécurité;

- d'un robinet de purge;
- d'un dispositif de régulation permettant le maintien de la température dans la chambre à ± 3 °C de la température prévue (pour tenir compte de l'incertitude de mesure associée au thermocouple de mesure); et
- d'une sonde thermique ou d'un thermocouple enregistreur.

Il est recommandé également qu'il soit muni d'un minuteur et d'un thermomètre enregistreur.

5.6.2 Utilisation

Avec la stérilisation à la vapeur, tout l'air est expulsé avant la montée en pression. Si l'autoclave n'est pas muni d'un dispositif d'évacuation automatique, il est nécessaire de le purger de son air jusqu'à émission d'un jet continu de vapeur.

Pour la stérilisation des milieux de culture, la vapeur saturée dans la chambre doit être à une température d'au moins 121 °C \pm 3 °C ou à la température spécifiée par les instructions du fabricant ou de production ou spécifiée dans la méthode d'essai.

Pour la destruction des micro-organismes cultivés et la décontamination des milieux de culture après utilisation, la vapeur saturée dans la chambre doit être à une température d'au moins 121 °C \pm 3 °C.

Au cours d'un même cycle de stérilisation, l'autoclave doit être utilisé soit pour stériliser le matériel propre (et/ou les milieux de culture), soit pour décontaminer le matériel usagé (et/ou les milieux de culture utilisés), mais pas les deux en même temps.

Il est préférable d'utiliser des autoclaves séparés pour ces deux processus. Après l'autoclavage, il est recommandé de laisser refroidir tous les matériels et équipements avant de les retirer de l'autoclave.

Pour des raisons de sécurité, ne pas retirer le contenu tant que la température est supérieure à environ 80 °C.

5.6.3 Entretien

Nettoyer régulièrement la chambre, le filtre de vidange et les joints d'étanchéité de la porte. Vérifier l'intégrité du joint d'étanchéité de la porte. Effectuer des opérations de vidange et de détartrage régulièrement, si nécessaire. Suivre les recommandations du fabricant.

5.6.4 Vérification

L'autoclave doit être maintenu en parfait état de fonctionnement et doit être régulièrement contrôlé par du personnel compétent selon les instructions du fabricant.

Maintenir les instruments de surveillance en bon état de fonctionnement et les vérifier par des étalonnages et des contrôles réguliers.

Il est recommandé que la validation initiale comprenne des études de performance pour chaque cycle de fonctionnement et chaque configuration de charge utilisée dans la pratique. Il est recommandé de répéter ce processus après toute réparation ou modification significative. Il est recommandé de placer un nombre suffisant de sondes thermiques dans la charge pour démontrer une pénétration de la chaleur adéquate en tous points de la charge. Il est recommandé que la validation et la revalidation prennent en compte la pertinence des durées de mise en température et de refroidissement ainsi que de la température de stérilisation.

Pour chaque charge, il est recommandé de placer au moins un indicateur du traitement thermique au centre de la charge pour vérifier la montée en température lorsqu'il n'existe aucun enregistrement permettant d'effectuer la traçabilité de l'efficacité du processus.

5.7 Préparateur de milieux de culture

5.7.1 Description

Un préparateur de milieux de culture est principalement conçu pour la stérilisation de volumes importants de milieu (> 1 l). Il est constitué d'un récipient pour la mise en température, d'une chemise d'eau et d'un agitateur continu. Le matériel doit également être muni d'une jauge de température, d'un manomètre, d'un minuteur et d'une soupape de sécurité.

De plus, il est recommandé que cet appareil soit muni d'un verrou de sécurité empêchant l'ouverture tant qu'une température < 80 °C n'est pas atteinte.

5.7.2 Utilisation

Toujours suivre les instructions du fabricant.

L'ensemble du processus de production a lieu au sein de l'appareil. Une fois que tous les ingrédients sont ajoutés, ils sont dissous par agitation et chauffage, puis stérilisés.

5.7.3 Entretien

Laver et rincer soigneusement le préparateur avec de l'eau purifiée après chaque lot de milieux de culture.

5.7.4 Vérification

Le préparateur doit être maintenu en parfait état de fonctionnement et doit être régulièrement contrôlé par le personnel compétent selon les instructions du fabricant.

Maintenir les instruments de surveillance en bon état de fonctionnement et les vérifier par des étalonnages et des contrôles réguliers.

Il est recommandé que la validation initiale comprenne des études de performance pour chaque cycle de fonctionnement et chaque type de charge utilisé dans la pratique. Il est recommandé de répéter ce processus après toute réparation ou modification significative. Il est possible d'utiliser deux sondes thermiques, l'une étant placée à proximité de la sonde de contrôle et l'autre étant éloignée de cette dernière, pour démontrer un chauffage uniforme.

Il est recommandé de vérifier la température et la durée de chaque cycle.

5.8 Étuve

5.8.1 Description

Une étuve consiste en une chambre calorifugée qui permet de maintenir une température stable et uniformément répartie dans la limite des erreurs maximales de température tolérées, spécifiées dans la méthode d'essai.

5.8.2 Utilisation

Les étuves doivent être équipées d'un système de régulation permettant de maintenir la température ou d'autres paramètres uniformes et stables dans l'ensemble de leur volume utile. Définir le volume utile de sorte à garantir l'uniformité et la stabilité de ces paramètres.

Si la température ambiante est proche de, ou supérieure à celle de l'étuve, il est nécessaire de munir la chambre d'un système de refroidissement.

Il est recommandé de protéger les parois de l'étuve de la lumière solaire.

Dans la mesure du possible, il est recommandé de ne pas remplir complètement l'étuve en une seule opération car le temps de stabilisation de la température des milieux de culture sera long, quel que soit le type d'étuve utilisé (convection d'air forcé ou autre). Éviter de laisser les portes de l'étuve ouvertes de manière prolongée.

Lors du chargement des étuves, il est recommandé de veiller à la circulation de l'air (voir 10.2.5).

5.8.3 Nettoyage et désinfection

Nettoyer et désinfecter régulièrement les parois intérieures et extérieures de l'étuve et, au besoin, dépoussiérer le système de ventilation.

5.8.4 Vérification

Vérifier, dans l'ensemble du volume utile de l'étuve, la stabilité et l'homogénéité de la température, à la (aux) température(s) de fonctionnement, en utilisant simultanément plusieurs thermomètres ou thermocouples, ayant une exactitude connue et une plage de mesure suffisante.

Utiliser ces informations pour définir l'amplitude acceptable de températures de travail de l'étuve et la position optimale du thermomètre ou du thermocouple enregistreur utilisé pour contrôler les températures de travail.

Par exemple, pour atteindre une température cible de (37 ± 1) °C quand les données de cartographie de l'étuve montrent une amplitude de 36,8 °C à 37,3 °C dans l'incubateur, il est recommandé de réduire alors l'amplitude de températures de travail de 36,2 °C à 37,7 °C dans le but d'assurer que toutes les parties de l'étuve sont à la température cible de 37 °C.

Il est recommandé de répéter ce processus après chaque réparation ou modification significative.

Il est recommandé de contrôler la température de travail, par exemple avec un ou plusieurs thermomètres à minima-maxima ou thermocouples enregistreurs.

Contrôler la température de l'étuve au minimum tous les jours de travail. À cet effet, chaque étuve doit contenir au moins un appareil de mesure pouvant être immergé dans du glycérol (ou système équivalent). D'autres systèmes de vérification de performances équivalentes peuvent également être utilisés.

5.9 Réfrigérateur, chambre froide

5.9.1 Description

Il s'agit d'enceintes permettant de maintenir une conservation au froid. La température doit être de (3 ± 2) °C (erreur maximale tolérée) pour la conservation des échantillons alimentaires à analyser, sauf pour des applications particulières. Dans le cadre d'autres utilisations, la température, sauf spécification contraire, doit être de (5 ± 3) °C.

5.9.2 Utilisation

Pour éviter toute contamination croisée, utiliser des enceintes, ou au moins des récipients, distinct(e)s, pour séparer physiquement et conserver

- des milieux de culture nonensemencés et des réactifs;
- des échantillons pour essai; et
- des cultures de micro-organismes et des milieux incubés.

Charger les réfrigérateurs, appareils frigorifiques et chambres froides en veillant à maintenir une circulation d'air appropriée et à réduire au minimum le risque de contamination croisée.

5.9.3 Vérification

Vérifier la température de chacune des enceintes chaque jour de travail à l'aide d'un thermomètre étalonné ou d'une sonde placée à demeure. L'exactitude requise pour ce dispositif de contrôle de la température dépend de l'objectif d'utilisation.

5.9.4 Entretien et nettoyage

Effectuer les opérations d'entretien suivantes à intervalles réguliers pour garantir un bon fonctionnement:

- le dépoussiérage des ailettes ou des plaques d'échange thermique externes;
- le dégivrage;
- le nettoyage et la désinfection de l'intérieur des enceintes.

5.10 Congélateur et surgélateur

5.10.1 Description

Un congélateur est une enceinte permettant de garantir une conservation en froid négatif. La température, sauf spécification contraire, doit être inférieure à -15 °C , de préférence inférieure à -18 °C pour les échantillons alimentaires.

Un surgélateur est une enceinte permettant de garantir une conservation surgelée. La température, sauf spécification contraire, doit être inférieure à -70 °C .

5.10.2 Utilisation

5.10.2.1 Congélateur

Il est nécessaire de disposer d'enceintes, ou au moins de récipients, distinct(e)s pour séparer physiquement et conserver

- certains réactifs non ensemencés;
- des échantillons pour analyse; et
- des cultures de micro-organismes.

Charger le congélateur de manière à maintenir une température suffisamment basse et cela particulièrement lorsque sont introduits des produits non congelés.

5.10.2.2 Surgélateur

Sa principale utilisation est la conservation de micro-organismes, de cultures de référence et/ou de travail et des réactifs.

Charger le surgélateur de manière à maintenir une température suffisamment basse et à éviter toute contamination croisée entre les micro-organismes et les réactifs.

5.10.3 Vérification

Vérifier la température de chacune des enceintes régulièrement à l'aide d'un dispositif de surveillance de la température appropriée.