



PROJET DE NORME INTERNATIONALE ISO/DIS 8784-1

ISO/TC 6/SC 2

Secrétariat: SIS

Début de vote
2011-11-02

Vote clos le
2012-04-02

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

Pâte, papier et carton — Analyse microbienne —

Partie 1:

Dénombrement des bactéries et des spores bactériennes basé sur la désagrégation

Pulp, paper and board — Microbiological examination —

Part 3: Enumeration of bacteria and bacterial spores based on disintegration

[Révision de la deuxième édition (ISO 8784-1:2005)]

ICS 07.100.99; 85.040; 85.060

Pour accélérer la distribution, le présent document est distribué tel qu'il est parvenu du secrétariat du comité. Le travail de rédaction et de composition de texte sera effectué au Secrétariat central de l'ISO au stade de publication.

To expedite distribution, this document is circulated as received from the committee secretariat. ISO Central Secretariat work of editing and text composition will be undertaken at publication stage.

CE DOCUMENT EST UN PROJET DIFFUSÉ POUR OBSERVATIONS ET APPROBATION. IL EST DONC SUSCEPTIBLE DE MODIFICATION ET NE PEUT ÊTRE CITE COMME NORME INTERNATIONALE AVANT SA PUBLICATION EN TANT QUE TELLE.

OUTRE LE FAIT D'ÊTRE EXAMINÉS POUR ÉTABLIR S'ILS SONT ACCEPTABLES À DES FINS INDUSTRIELLES, TECHNOLOGIQUES ET COMMERCIALES, AINSI QUE DU POINT DE VUE DES UTILISATEURS, LES PROJETS DE NORMES INTERNATIONALES DOIVENT PARFOIS ÊTRE CONSIDÉRÉS DU POINT DE VUE DE LEUR POSSIBILITÉ DE DEVENIR DES NORMES POUVANT SERVIR DE RÉFÉRENCE DANS LA RÉGLEMENTATION NATIONALE.

LES DESTINATAIRES DU PRÉSENT PROJET SONT INVITÉS À PRÉSENTER, AVEC LEURS OBSERVATIONS, NOTIFICATION DES DROITS DE PROPRIÉTÉ DONT ILS AURAIENT ÉVENTUELLEMENT CONNAISSANCE ET À FOURNIR UNE DOCUMENTATION EXPLICATIVE.

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/43920fab-d1da-4e8a-979f-69e759621c9e/iso-8784-1-2014>

Notice de droit d'auteur

Ce document de l'ISO est un projet de Norme internationale qui est protégé par les droits d'auteur de l'ISO. Sauf autorisé par les lois en matière de droits d'auteur du pays utilisateur, aucune partie de ce projet ISO ne peut être reproduite, enregistrée dans un système d'extraction ou transmise sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé électronique ou mécanique, y compris la photocopie, les enregistrements ou autres, sans autorisation écrite préalable.

Les demandes d'autorisation de reproduction doivent être envoyées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au 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

Toute reproduction est soumise au paiement de droits ou à un contrat de licence.

Les contrevenants pourront être poursuivis.

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Milieux de culture et diluants	2
5.1 Généralités	2
5.2 Eau	2
5.3 Milieux de culture relatifs au nombre total de bactéries et relatifs au nombre total de spores	2
5.4 Diluants	2
6 Appareillage et matériel	3
6.1 Généralités	3
6.2 Liste de matériel	3
7 Echantillonnage	3
8 Préparation du matériau pour essai	4
8.1 Généralités	4
8.2 Détermination de la teneur en matière sèche	4
8.3 Pesée	4
8.4 Désagrégation	4
9 Détermination du nombre total de bactéries et du nombre de spores	5
9.1 Généralités	5
9.2 Ensemencement relatif au nombre total de bactéries	5
9.3 Ensemencement relatif au nombre de spores	5
9.4 Incubation	6
10 Dénombrement des colonies	6
11 Calcul et expression des résultats	6
11.1 Calcul	6
11.2 Interprétation	8
11.3 Rapport	8
12 Rapport d'essai	8
Annexe A (informative) Liquide de dilution	9
A.1 Solution de Ringer	9
A.2 Surfactant non ionique	9
A.3 Extrait de tryptone glucose	9
Annexe B (informative) Fidélité	10
B.1 Généralités	10
B.2 Recommandations	10
B.2.1 Echantillons de référence certifiés	10
B.2.2 Données de fidélité selon l'ISO 4833^[1]	10
B.2.3 Données publiées dans l'ISO 4833	10
Bibliographie	12

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 8784-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 6, *Papiers, cartons et pâtes*, sous-comité SC 2, *Méthodes d'essais et spécifications de qualité des papiers et cartons*.

Cette troisième édition annule et remplace la deuxième édition (ISO 8784-1:2005), qui a fait l'objet d'une révision technique. La deuxième édition s'appliquait aux levures et aux moisissures ainsi qu'aux bactéries. Dans le texte révisé, le contenu a été divisé en deux parties, dans la Partie 1, les bactéries et les spores bactériennes sont dénombrées après désagrégation, et dans la Partie 2, les levures et les moisissures sont dénombrées en surface.

L'ISO 8784 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Pâtes, papiers et cartons — Analyse microbiologique*:

- Partie 1 : Dénombrement des bactéries et spores bactériennes, basé sur la désagrégation
- Partie 2 : Dénombrement des levures et des moisissures en surface¹⁾

1) La Partie 2 est en cours d'élaboration et n'est pas encore publiée.

Introduction

La présente partie de l'ISO 8784, qui traite de l'analyse microbiologique de la pâte commerciale sèche, du papier et du carton, est dans ses grandes lignes fondée sur l'ISO 4833^[1], malgré des conditions différentes. Toutefois, elle fournit des précisions particulières lorsque cela s'avère nécessaire. Elle est destinée à l'estimation de colonies formant unité, CFU, des bactéries aérobies et des spores bactériennes.

Compte tenu de la précision des techniques exigées dans les modes opératoires aseptiques, des résultats reproductibles de bonne qualité peuvent être garantis uniquement par un personnel qualifié en microbiologie.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/43920fab-d1da-4c8a-979f-69e759621c9e/iso-8784-1-2014>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/43920fab-d1da-4c8a-979f-69e759621c9e/iso-8784-1-2014>

Pâte, papier et carton — Analyse microbienne —

Partie 1:

Dénombrement des bactéries et des spores bactériennes basé sur la désagrégation

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 8784 spécifie une méthode de détermination du nombre total de colonies de bactéries et de spores bactériennes formant unité, dans la pâte commerciale, le papier et le carton, après désagrégation. Le dénombrement se rapporte à un milieu spécifique.

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 186:2002, *Papier et carton — Échantillonnage pour déterminer la qualité moyenne.*

ISO 7213:1981, *Pâtes — Échantillonnage pour essais.*

ISO 638:2008, *Papiers, cartons et pâtes — Détermination de la teneur en matières sèches — Méthode par séchage à l'étuve.*

3 Termes et définitions

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

3.1

bactérie

organisme microscopique unicellulaire ayant une structure cellulaire de type procaryote, qui se reproduit par division et pouvant croître dans les conditions d'essai spécifiées dans la présente partie de l'ISO 8784

3.2

spore bactérienne

structure hautement résistante en sommeil, par exemple endospore provenant d'un genre particulier de bactérie

3.3

nombre total de bactéries

nombre de colonies de bactéries et de spores bactériennes formant unité (CFU), formées après incubation dans un milieu de culture type, dans des conditions d'essai spécifiées dans la présente partie de l'ISO 8784

3.4

nombre de spores

nombre de colonies formant unité (CFU), de spores bactériennes formées après incubation dans un milieu de culture type, dans les conditions d'essai spécifiées dans la présente partie de l'ISO 8784

4 Principe

La présente méthode consistant à transvaser dans une boîte de Petri implique un dénombrement des colonies dans un milieu de culture type. Une suspension fibreuse préparée à partir d'échantillons de papier, de carton ou de pâte estensemencée dans de la gélose. Pour le dénombrement de spores bactériennes, la suspension fibreuse est chauffée avant l'ensemencement pendant 10 min à 80 °C. Les boîtes subissent une incubation à 32 °C pendant 48 h. Le nombre total de bactéries ou de spores bactériennes est obtenu par dénombrement en comptant les colonies formées dans la gélose. Les résultats sont exprimés en nombre de CFU par gramme d'échantillon.

5 Milieux de culture et diluants

5.1 Généralités

Tous les substrats et diluants doivent être convenablement stérilisés. Lors de la préparation du milieu de culture, s'assurer que les ingrédients sont entièrement dissous en mélangeant pendant qu'ils chauffent avant de les répartir dans des récipients appropriés pour stérilisation. Voir l'ISO/TS 11133-1^[2] et l'ISO/TS 11133-2^[3] relatives à l'assurance qualité et aux lignes directrices pour la préparation et la production de milieux de culture.

5.2 Eau

Lorsque de l'eau est mentionnée dans une formule, utiliser de l'eau distillée ou purifiée, voir l'ISO/TS 11133-1^[2].

5.3 Milieux de culture relatifs au nombre total de bactéries et relatifs au nombre total de spores

Les milieux de culture doivent être préparés de la manière suivante ou selon les instructions du fabricant à partir de milieux de culture déshydratés disponibles dans le commerce. Les milieux prêts à l'emploi peuvent être utilisés lorsque leur composition est comparable à celle donnée dans la présente partie de l'ISO 8784. Pour les essais de performance des milieux, voir l'ISO/TS 11133-2^[3].

Composition par litre de la gélose pour dénombrement :

Tryptone	5,0 g
Extrait de levure	2,5 g
Dextrose	1,0 g
Gélose	15,0 g
Eau	1000 ml
pH final	7,0 ± 0,2

En l'absence de gélose pour dénombrement, la gélose à l'extrait de glucose tryptone (TGE) peut être utilisée (voir A.3). L'utilisation de TGE comme autre milieu de culture est admis s'il donne des résultats comparables au milieu de culture type. Le milieu de culture utilisé doit être consigné dans le rapport d'essai (voir 12).

5.4 Diluants

Il est préférable d'utiliser la solution de Ringer (voir A.1) bien que d'autres solutions isotoniques puissent être utilisées. Des pastilles Ringer sont disponibles dans le commerce.

Pour faciliter la libération des cellules par les fibres, il est recommandé d'ajouter 20 µl de Tween 80 (voir A.2) par litre à la solution de Ringer, avant la stérilisation par autoclave.

Le diluant utilisé et l'ajout éventuel de Tween 80 doivent être consignés dans le rapport d'essai (voir 12).

6 Appareillage et matériel

6.1 Généralités

Tout le matériel de laboratoire et les parties du matériel en contact direct avec l'échantillon et le diluant ou le milieu de culture doivent être stérilisés.

6.2 Liste de matériel

6.2.1 Utiliser du matériel de laboratoire ordinaire pour microbiologie, et le matériel suivant.

6.2.2 Matériel d'emballage approprié, par exemple feuille d'aluminium (non revêtue et inerte), enveloppes prêtes à l'emploi de dimensions différentes ou sacs plastiques auto-fermants ; tous disponibles dans le commerce.

6.2.3 Désintégrateur, mélangeur électrique à grande vitesse doté d'un récipient en métal (de préférence en acier inoxydable) ou en verre pouvant être stérilisé.

NOTE Un autre système d'homogénéisation d'efficacité équivalente peut être utilisé.

6.2.4 Incubateur, permettant de maintenir une température constante de $32\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

6.2.5 Boîtes de Petri, d'un diamètre de 90 mm (normalisé) ou de 140 mm à 150 mm (autre possibilité).

6.2.6 Pipettes, d'un volume approprié, à large ouverture. La largeur de l'ouverture doit être assez grande pour qu'une suspension fibreuse à 1 % puisse facilement couler dans l'embout de la pipette.

NOTE 10 ml ou 50 ml représentent un volume approprié.

6.2.7 Bain-marie permettant de maintenir une température de $80\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

6.2.8 Matériel de dénombrement des colonies ou dispositif grossissant, d'un grossissement d'au moins 1,5 x. L'utilisation de lentilles supplémentaires peut être nécessaire pour augmenter le grossissement jusqu'à 10 fois, afin de faciliter le dénombrement des colonies bactériennes formant unité, se présentant sous forme de points, et aussi pour garantir qu'aucun autre élément à l'exception des colonies de bactéries n'est compté (voir 10, dénombrement des colonies).

6.2.9 Balance, précise à 0,01 g.

6.2.10 Unité de stérilisation : autoclave permettant de stériliser à 121 °C .

7 Echantillonnage

S'assurer que le mode opératoire d'échantillonnage est réalisé en utilisant des techniques d'aseptie.

Si l'échantillon représente un lot de papier ou de carton, l'échantillonnage doit être conforme à l'ISO 186. Découper plusieurs couches supérieures dans chaque unité de papier ou de carton à échantillonner et les retirer pour éliminer la contamination en surface. Utiliser un couteau stérile et découper plusieurs feuilles. Retirer la feuille supérieure.