



Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* bêta-glucuronidase positive —

Partie 3:

Technique du nombre le plus probable utilisant le bromo-5-chloro-4-indolyl-3 beta-D-glucuronate

Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli —

Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-beta-D-glucuronide

ICS 07.100.30

TRAITEMENT PARALLÈLE ISO/CEN

Le présent projet a été élaboré dans le cadre de l'Organisation internationale de normalisation (ISO) et soumis selon le mode de collaboration **sous la direction de l'ISO**, tel que défini dans l'Accord de Vienne.

Le projet est par conséquent soumis en parallèle aux comités membres de l'ISO et aux comités membres du CEN pour enquête de cinq mois.

En cas d'acceptation de ce projet, un projet final, établi sur la base des observations reçues, sera soumis en parallèle à un vote d'approbation de deux mois au sein de l'ISO et à un vote formel au sein du CEN.

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 CITÉ 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/5b42dda1-1ec6-4997-8aa7-8c3990f270fd/iso-16649-3-2015>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2013

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées 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

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	2
4 Principe	2
4.1 Méthode de détection	2
4.2 Méthode de dénombrement	3
5 Diluants et milieux de culture	3
5.1 Diluants	3
5.2 Milieux de culture	4
5.2.1 Milieu au glutamate modifié (milieu d'enrichissement sélectif)	4
5.2.2 Gélose tryptone-bile-glucuronate (deuxième milieu sélectif)	5
5.2.3 Essais de performance pour l'assurance qualité des milieux de culture	5
6 Appareillage et verrerie	6
7 Échantillonnage	6
8 Préparation de l'échantillon pour essai	7
9 Mode opératoire	7
9.1 Méthode de détection	7
9.1.1 Prise d'essai, suspension mère et dilutions	7
9.1.2 Incubation	7
9.1.3 Mise en subculture	7
9.1.4 Deuxième incubation	7
9.1.5 Examen des boîtes	7
9.1.6 Interprétation	7
9.2 Méthode de dénombrement	7
9.2.1 Prise d'essai, suspension mère et dilutions	7
9.2.2 Ensemencement du milieu d'enrichissement sélectif	8
9.2.3 Incubation	8
9.2.4 Mise en subculture	8
9.2.5 Deuxième incubation	8
9.2.6 Examen des boîtes	8
9.2.7 Interprétation	8
10 Expression des résultats	9
10.1 Méthode de détection	9
10.2 Méthode de dénombrement	9
11 Fidélité	9
12 Rapport d'essai	9
Bibliographie.....	10

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 16649-3 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

L'ISO 16649 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Microbiologie des aliments — Dénombrement des Escherichia coli β -glucuronidase-positive* :

- *Partie 1 : Technique de comptage des colonies à 44 °C au moyen de membranes et de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronate*
- *Partie 2 : Technique de comptage des colonies à 44 °C au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronate*
- *Partie 3: Détection et technique du nombre le plus probable au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronate*

Introduction

En raison de la grande diversité des aliments destinés à la consommation humaine ou animale, la présente méthode horizontale peut ne pas convenir pour certains produits. Dans ce cas, différentes méthodes spécifiques de ces produits peuvent être utilisées lorsque cela s'avère absolument nécessaire pour des raisons techniques justifiées. Néanmoins, la méthode horizontale devra être appliquée aussi souvent que possible.

Lors de la prochaine révision de la présente Norme internationale, il sera tenu compte de toutes les informations indiquant dans quelle mesure cette méthode horizontale a été suivie, ainsi que des raisons des dérogations dans le cas de produits particuliers.

L'harmonisation de toutes les méthodes d'essai ne peut être réalisée de façon immédiate ; de ce fait, il peut déjà exister des normes internationales et/ou nationales pour certains groupes de produits, qui ne concordent pas avec cette méthode horizontale. Lors de la prochaine révision de ces normes, il serait souhaitable de les aligner avec la présente norme internationale de sorte que les seules divergences éventuelles restantes soient celles nécessaires pour des raisons techniques bien établies.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5b42dda1-1ec6-4997-8aa7-8c3990270fd/iso-16649-3-2015>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5b42dda1-1ec6-4997-8aa7-8c3990270fd/iso-16649-3-2015>

Microbiologie des aliments — Dénombrement des *Escherichia coli* β -glucuronidase-positives — Partie 3: Détection et technique du nombre le plus probable au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronate

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode horizontale pour la détection et le dénombrement des *Escherichia coli* β -glucuronidase positive par la technique de mise en culture en milieu liquide et par le calcul du nombre le plus probable (NPP) après incubation à 37 °C, puis à 44 °C. La présente Norme internationale est applicable :

- aux produits alimentaires destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation des animaux ; et
- aux échantillons environnementaux dans la zone de production et de manutention des produits alimentaires.

Cette méthode convient pour le dénombrement des cellules d'*Escherichia coli* qui ont pu souffrir de déshydratation, de congélation, d'exposition à un environnement salin (marin par exemple) ou avoir été endommagées par des désinfectants, par exemple des produits contenant du chlore.

L'applicabilité de la présente Norme internationale est limitée par le fait que la méthode est sujette à une importante variabilité. Il convient d'appliquer la méthode et d'interpréter les résultats à la lumière des informations fournies à l'Article 11.

Cette méthode n'a pas fait l'objet d'une évaluation complète pour toutes les matrices, par exemple pour le lait et les produits laitiers, pour lesquels il convient d'utiliser l'ISO 7251.

AVERTISSEMENT — La méthode décrite dans la présente Norme internationale ne permet pas de détecter les souches d'*Escherichia coli* qui ne se développent pas à 44 °C et, en particulier, celles qui sont β -glucuronidase négative, comme *Escherichia coli* O157 et quelques autres souches d'*E. coli* pathogènes.

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 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 6887-3, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 3 : Règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche.*

ISO 6887-4, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 4 : Règles spécifiques pour la préparation de produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche.*

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 du lait et des produits laitiers.*

ISO 7251, *Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement d'Escherichia coli présumés — Technique du nombre le plus probable.*

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
Escherichia coli β -glucuronidase positive
bactéries qui, à 44 °C, forment des colonies bleues ou bleues-vertes caractéristiques sur le milieu tryptone-bile-glucuronate dans les conditions spécifiées dans la présente partie de l'ISO 16649

3.2
dénombrement des Escherichia coli β -glucuronidase positive
détermination du nombre le plus probable d'Escherichia coli β -glucuronidase positive, par millilitre ou par gramme d'échantillon, lorsque l'essai est effectué selon la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 16649

4 Principe

4.1 Méthode de détection

4.1.1 Ensemencement d'un milieu sélectif liquide d'enrichissement avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai si le produit à examiner est liquide, ou avec une quantité déterminée de suspension mère dans le cas d'autres produits.

4.1.2 Incubation du tube à 37 °C pendant 24 h. Examen du tube pour déceler une éventuelle production d'acide, signifiant une fermentation du lactose.

4.1.3 Si le tube présente une production d'acide, mettre en subculture sur gélose tryptone-bile-glucuronate [5.2.2].

4.1.4 Incubation de la gélose tryptone-bile-glucuronate [5.2.2] à 44 °C pendant 20 h à 24 h. Examen de la gélose tryptone-bile-glucuronate [5.2.2] pour déceler la présence éventuelle de colonies bleues ou bleues-vertes, signifiant la présence d'*Escherichia coli* β-glucuronidase positive.

4.1.5 Le résultat est exprimé sous forme de "présence" ou "absence" de présomption d'*Escherichia coli* dans x g ou x ml de produit.

4.2 Méthode de dénombrement

4.2.1 Ensemencement de trois ou cinq tubes ¹⁾ de milieu sélectif liquide d'enrichissement double concentration [5.2.1.1 a] avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai si le produit à examiner est liquide, ou avec une quantité déterminée de suspension mère dans le cas d'autres produits.

4.2.2 Ensemencement de trois ou cinq tubes de milieu liquide d'enrichissement simple concentration [5.2.1.1 b] avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai si le produit à examiner est liquide, ou avec une quantité déterminée de suspension mère dans le cas d'autres produits.

Puis, dans les mêmes conditions, ensemencement du milieu avec des dilutions décimales de l'échantillon pour essai ou de la suspension mère.

4.2.3 Incubation des tubes de milieu double ou simple concentration à (37 ± 1) °C pendant 24 h. Examen des tubes pour déceler une éventuelle production d'acide, signifiant une fermentation du lactose.

4.2.4 Pour chaque tube de milieu [5.2.1] présentant une production d'acide, mettre en subculture sur gélose tryptone-bile-glucuronate [5.2.2].

4.2.5 Incubation de la gélose tryptone-bile-glucuronate [5.2.2] à (44 ± 1) °C pendant 20 h à 24 h. Examen de la gélose tryptone-bile-glucuronate [5.2.2] pour déceler la présence éventuelle de colonies bleues ou bleues-vertes, signifiant la présence d'*Escherichia coli* β-glucuronidase positive .

4.2.6 Détermination du nombre le plus probable d'*Escherichia coli* β-glucuronidase positive (voir l'ISO 7218), en fonction du nombre de tubes de milieu [5.2.1] dont les subcultures ont produit des colonies bleues ou bleues-vertes sur gélose tryptone-bile-glucuronate.

5 Diluants et milieux de culture

Pour la pratique courante en laboratoire, voir l'ISO 7218.

5.1 Diluants

Voir l'ISO 6887.

1) Pour les coquillages bivalves vivants ou autres produits spéciaux, et/ou lorsqu'une plus grande exactitude est requise, il est nécessaire d'ensemencer une série de cinq tubes.