
**Microbiologie de la chaîne
alimentaire — 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 variés**

*Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial
suspension and decimal dilutions for microbiological examination —
Part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products*



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6887-4:2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/88103b38-d503-48ab-a76e-545333528d81/iso-6887-4-2017)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/88103b38-d503-48ab-a76e-545333528d81/iso-6887-4-2017>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2017, Publié en Suisse

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
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland
Tel. +41 22 749 01 11
Fax +41 22 749 09 47
copyright@iso.org
www.iso.org

Sommaire

	Page
Avant-propos.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	2
3 Termes et définitions	2
4 Principe	2
5 Diluants	2
5.1 Composants de base.....	2
5.2 Diluants d'emploi général.....	2
5.2.1 Solution de peptone-sel.....	2
5.2.2 Eau peptonée tamponnée.....	3
5.3 Diluants pour des besoins particuliers.....	3
5.3.1 Eau peptonée tamponnée double concentration.....	3
5.3.2 Diluant tampon phosphate.....	3
5.4 Distribution et stérilisation du diluant.....	3
5.5 Essai de performance des diluants.....	3
5.6 Solutions enzymatiques.....	4
5.6.1 Solution d'alpha-amylase.....	4
5.6.2 Solution de cellulase.....	4
5.6.3 Solution de papaine.....	4
6 Appareillage	5
7 Prélèvement et types d'échantillons	5
8 Préparation des échantillons	6
8.1 Généralités.....	6
8.2 Produits acides.....	6
8.3 Aliments à haute teneur en matière grasse, à l'exclusion de la margarine et des produits à tartiner (par exemple, plus de 20 % de matière grasse sur la masse totale).....	6
8.4 Produits durs et secs.....	6
9 Modes opératoires spécifiques	7
9.1 Produits déshydratés et à faible activité a_w	7
9.1.1 Généralités.....	7
9.1.2 Appareillage.....	7
9.1.3 Préparation des échantillons.....	7
9.1.4 Préparation de la suspension mère.....	7
9.1.5 Revivification.....	9
9.1.6 Activité de l'eau.....	9
9.2 Farines, graines de céréales et sous-produits de meunerie, et aliments pour animaux.....	10
9.3 Gélatine (en poudre et en feuilles).....	10
9.3.1 Préparation des échantillons.....	10
9.3.2 Préparation de la suspension mère.....	11
9.4 Margarine et produits à tartiner.....	11
9.4.1 Prélèvement.....	11
9.4.2 Préparation de l'échantillon pour essai.....	11
9.5 Œufs et ovoproduits.....	12
9.5.1 Œufs frais entiers.....	12
9.5.2 Microflore de la coquille d'œuf entier.....	13
9.5.3 Microflore interne.....	13
9.5.4 Œuf entier liquide en vrac, blanc d'œuf liquide en vrac et jaune d'œuf liquide en vrac.....	13
9.5.5 Œuf entier déshydraté et blanc d'œuf séché.....	13
9.5.6 Microflore de l'œuf entier (coquille + jaune + blanc).....	13
9.6 Produits de boulangerie, pâtisseries et gâteaux.....	14

9.6.1	Généralités	14
9.6.2	Préparation des échantillons	14
9.7	Fruits et légumes frais (préemballés).....	14
9.7.1	Préparation d'échantillons de produits hétérogènes.....	14
9.7.2	Produits préemballés contenant un seul type de fruit ou légume.....	14
9.8	Produits fermentés ou autres produits contenant des micro-organismes vivants.....	14
9.8.1	Généralités	14
9.8.2	Diluant	15
9.9	Boissons (boissons alcoolisées et non alcoolisées et eaux en bouteille, plates ou gazeuses).....	15
9.9.1	Généralités	15
9.9.2	Dégazage par renversement et mélange	15
9.9.3	Dégazage aux ultrasons.....	15
9.10	Autres produits à base de protéines (insectes cuits, protéines végétales texturées ou mycoprotéines).....	15
9.10.1	Généralités	15
9.10.2	Insectes cuits.....	16
9.10.3	Protéines végétales texturées et mycoprotéines.....	16
10	Dilutions suivantes.....	16
	Bibliographie.....	17

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6887-4:2017
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/88103b38-d503-48ab-a76e-545333528d81/iso-6887-4-2017>

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 (IEC) 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/IEC, 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/IEC, Partie 2 (voir 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 dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/patents).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute autre information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: www.iso.org/iso/foreword.html.

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

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 6887-4:2003), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Elle inclut également l'Amendement ISO 6887-4:2003/Amd.1:2011 et le Rectificatif technique ISO 6887-4:2003/Cor.1:2004.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 6887 est disponible sur le site Internet de l'ISO.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6887-4:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/88103b38-d503-48ab-a76e-545333528d81/iso-6887-4-2017>

Microbiologie de la chaîne alimentaire — 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 variés

AVERTISSEMENT — Le présent document 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 du présent document 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

Le présent document spécifie les règles de préparation d'échantillons et de dilutions pour l'examen microbiologique de produits alimentaires spécifiques non concernés par les autres parties de l'ISO 6887 qui ont trait à des catégories plus générales. Le présent document concerne une vaste gamme de produits variés mais ne comprend pas les nouveaux produits commercialisés après la date de publication.

L'ISO 6887-1 définit les règles générales de préparation de la suspension mère et des dilutions en vue de l'examen microbiologique.

Le présent document exclut la préparation d'échantillons en vue des méthodes de dénombrement et de recherche lorsque les détails de préparation sont spécifiés dans les Normes internationales applicables.

Le présent document est applicable aux produits suivants:

- produits acides (faible pH);
- produits durs et secs;
- produits déshydratés, lyophilisés et autres produits à faible activité a_w (notamment ceux ayant des propriétés inhibitrices);
- farines, grains de céréales entiers, produits céréaliers dérivés;
- aliments pour animaux, tourteaux, croquettes et os à mâcher;
- gélatine (en poudre et en feuilles);
- margarines, produits à tartiner et produits non laitiers contenant de l'eau;
- œufs et ovoproduits;
- produits de boulangerie, pâtisseries et gâteaux;
- fruits et légumes frais;
- produits fermentés et autres produits contenant des micro-organismes vivants;
- boissons alcoolisées et non alcoolisées;
- autres produits à base de protéines.

2 Références normatives

Les documents suivants sont référencés dans le texte de sorte qu'une partie ou la totalité de leur contenu constitue des exigences 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 de la chaîne alimentaire — 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 pour les examens microbiologiques*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'ISO 6887-1 s'appliquent.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <http://www.iso.org/obp>

4 Principe

Les principes généraux relatifs à la préparation des échantillons et aux étapes ultérieures sont détaillés dans l'ISO 6887-1. Le présent document décrit les mesures spécifiques relatives aux produits non concernés par les autres parties de l'ISO 6887.

Préparer la suspension mère de façon à obtenir une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes contenus dans la prise d'essai.

Pour les méthodes de recherche, préparer la suspension de préenrichissement ou d'enrichissement de la même manière, en utilisant le milieu préconisé par la méthode d'analyse concernée. Pour les méthodes de dénombrement utilisées pour tous les types d'aliments du présent document, les diluants d'emploi général sont documentés dans les articles appropriés de l'ISO 6887-1 et les diluants pour des besoins particuliers sont indiqués dans [l'Article 5](#).

Préparer, si nécessaire, des dilutions suivantes 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 ou tubes de gélose), comme précisé dans chaque norme spécifique.

5 Diluants

5.1 Composants de base

Voir l'ISO 6887-1.

5.2 Diluants d'emploi général

5.2.1 Solution de peptone-sel

Voir l'ISO 6887-1.

5.2.2 Eau peptonée tamponnée

Voir l'ISO 6887-1.

5.3 Diluants pour des besoins particuliers

5.3.1 Eau peptonée tamponnée double concentration

5.3.1.1 Composition et préparation

Voir l'ISO 6887-1.

5.3.1.2 Application

Utiliser ce diluant pour des produits très acides $\text{pH} \geq 3,5$ à $\text{pH} < 4,5$ pour obtenir une suspension mère de $\text{pH} 7,0 \pm 0,5$.

NOTE L'eau peptonée tamponnée ([5.2.2](#)) est suffisante pour les produits de $\text{pH} 4,5$ et plus.

5.3.2 Diluant tampon phosphate

5.3.2.1 Composition

Hydrogénophosphate disodique dodécahydraté ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 9,0 g

Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) 1,5 g

Eau 1 000 ml
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/88103b38-d503-48ab-a76e-545333528d81/iso-6887-4-2017>

5.3.2.2 Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau, en chauffant si nécessaire.

Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,0 \pm 0,2$ à 25°C .

5.3.2.3 Application

La solution tampon phosphate est utilisée comme diluant pour la gélatine ([9.3](#)).

5.4 Distribution et stérilisation du diluant

Voir l'ISO 6887-1.

5.5 Essai de performance des diluants

Voir l'ISO 6887-1.

5.6 Solutions enzymatiques

5.6.1 Solution d'alpha-amylase

5.6.1.1 Composition

α-amylase	1,0 g
Eau	100 ml

5.6.1.2 Préparation

Dissoudre l'α-amylase dans l'eau et stériliser la solution en la passant à travers un filtre à membrane de 0,2 μm. La solution enzymatique peut être conservée jusqu'à 1 mois à 5 °C ± 3 °C ou jusqu'à 3 mois à ≤-20 °C.

Il se peut que la composition finale de la solution d'α-amylase doive être ajustée en fonction de l'activité enzymatique de l'α-amylase commerciale utilisée et des propriétés épaississantes de l'échantillon pour essai.

5.6.1.3 Application

Cette solution enzymatique est ajoutée à raison de 10 ml à 1 000 ml de diluant (fraction volumique de 1 %) pour améliorer la solubilité des produits gonflants à base d'amidon, des céréales et des produits contenant des céréales ([9.1.4.3](#)).

5.6.2 Solution de cellulase

5.6.2.1 Composition

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/88103b38-d503-48ab-a76e-545333528d81/iso-6887-4-2017>

Cellulase	1,0 g
Eau	100 ml

5.6.2.2 Préparation

Dissoudre la cellulase dans l'eau et stériliser la solution en la passant à travers un filtre à membrane de 0,2 μm. La solution enzymatique peut être conservée jusqu'à deux semaines à 5 °C ± 3 °C ou jusqu'à 1 mois à ≤-20 °C.

NOTE L'utilisation d'une nouvelle solution garantira une activité enzymatique maximale.

5.6.2.3 Application

Cette solution enzymatique est ajoutée à raison de 10 ml à 1 000 ml de diluant (fraction volumique de 1 %) pour améliorer la solubilité de la carboxyméthylcellulose, des fèves de caroube, de la caroube, des gommes de guar et de cassia ([9.1.4.3](#)).

5.6.3 Solution de papaïne

5.6.3.1 Composition

Papaïne	5,0 g
Eau	100 ml

5.6.3.2 Préparation

Dissoudre la papaïne dans l'eau et stériliser la solution en la passant à travers un filtre à membrane de 0,2 µm. Cette solution enzymatique peut être conservée pendant 1 mois à 5 °C ± 3 °C.

NOTE L'utilisation d'une nouvelle solution garantira une activité enzymatique maximale.

5.6.3.3 Application

Cette solution enzymatique est ajoutée à raison de 20 ml à 1 000 ml de diluant (fraction volumique de 2 %) pour améliorer la solubilité de la gélatine (9.1.4.3 et 9.3).

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 Homogénéisateurs.

6.1.1 Homogénéisateur rotatif (mélangeur).

Voir l'ISO 7218. Si un échantillon volumineux doit être homogénéisé, il convient de prévoir un matériel équipé d'un bol de 1 l.

6.1.2 Homogénéisateur péristaltique.

Voir l'ISO 7218. Avec des sacs plastiques, ou des sacs à filtre pour retenir la matière particulaire si nécessaire, stériles.

6.2 Râpe de type ménager, stérile.

ISO 6887-4:2017
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/88103b38-d503-48ab-a76e-345333528d81/iso-6887-4-2017>

6.3 Marteau ou autre outil lourd, capable de broyer des matériaux durs.

6.4 Bains d'eau, pouvant être maintenus entre 44 °C et 47 °C ou à la température requise en fonction des besoins.

6.5 Ciseaux, couteaux, scalpels et pinces stériles.

6.6 Spatules, cuillères ou pelles de prélèvement stériles.

6.7 Carottiers stériles, permettant de prélever des échantillons en profondeur.

6.8 Agitateur à mouvement de va-et-vient.

6.9 Flacons à large ouverture stériles ou autres récipients de 500 ml de capacité.

6.10 Bains à ultrasons, pouvant fonctionner à une fréquence de 35 MHz à 45 MHz.

7 Prélèvement et types d'échantillons

Effectuer le prélèvement conformément à la norme spécifique du produit concerné ou voir l'ISO/TS 17728. Pour plus de clarté, l'Article 9 fournit des lignes directrices concernant le prélèvement de certains produits. S'il n'y a pas de norme spécifique, il est recommandé que les parties concernées se mettent d'accord à ce sujet.