
**Pâtes, papiers et cartons — Analyse
microbiologique —**

**Partie 2:
Dénombrement des bactéries, des
levures et des moisissures en surface**

*Pulp, paper and board — Microbiological examination —
Part 2: Enumeration of bacteria, yeast and mould on surface*

(standards.iteh.ai)

[ISO 8784-2:2023](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6712e7fe-374d-4527-857d-3a08f1c08941/iso-8784-2-2023)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6712e7fe-374d-4527-857d-3a08f1c08941/iso-8784-2-2023>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 8784-2:2023

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6712e7fe-374d-4527-857d-3a08f1c08941/iso-8784-2-2023>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2023

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée 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 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
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	1
4 Principe	2
5 Milieux de culture - Boîtes de contact pour les bactéries, les levures et les moisissures	2
6 Matériel	2
7 Échantillonnage	3
8 Préparation du matériau pour essai	3
9 Mode opératoire	4
9.1 Conditions	4
9.2 Recueil de bactéries, de levures et de moisissures	4
9.3 Incubation	5
10 Dénombrement des colonies	5
11 Expression des résultats et rapport	6
11.1 Expression des résultats	6
11.2 Interprétation	6
12 Rapport d'essai	6

[ISO 8784-2:2023](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6712e7fe-374d-4527-857d-3a08f1c08941/iso-8784-2-2023)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6712e7fe-374d-4527-857d-3a08f1c08941/iso-8784-2-2023>

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 attirée 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/brevets).

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 nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute 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: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.

Le présent document a été élaboré 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*.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 8784 se trouve sur le site web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Introduction

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)

ISO 8784-2:2023

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6712e7fe-374d-4527-857d-3a08f1c08941/iso-8784-2-2023>

Pâtes, papiers et cartons — Analyse microbiologique —

Partie 2:

Dénombrement des bactéries, des levures et des moisissures en surface

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode de détermination de la population de bactéries, de levures et de moisissures à la surface du papier et du carton. Le dénombrement se rapporte à un milieu spécifique.

Le présent document s'applique à tous les types de papiers et de cartons, à la pâte commerciale sèche sous forme de feuilles et au matériau d'emballage.

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, 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 186, *Papier et carton — Échantillonnage pour déterminer la qualité moyenne*

ISO 7213, *Pâtes — Échantillonnage pour essais*

ISO 7218, *Microbiologie des aliments — Règles générales pour les examens microbiologiques*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants 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:

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

3.1

bactérie

organisme microscopique unicellulaire ayant une structure cellulaire de type procaryote, qui se reproduit par division et peut croître dans des conditions d'essai spécifiques

3.2

levure

champignon unicellulaire qui se multiplie principalement de manière végétative en bourgeonnant, capable de se développer dans des conditions d'essais spécifiques

3.3

moisissure

mycélium formant des micromycètes, y compris les spores et les conidies, capable de se développer dans des conditions d'essai spécifiques

3.4

éprouvette

partie du produit en papier ou en carton qui est utilisée dans l'essai pour évaluer le nombre de bactéries, de levures et de moisissures à la surface du produit

4 Principe

La présente méthode décrit un mode opératoire permettant de déterminer le nombre d'unités formant colonie (UFC) de bactéries, de levures et de moisissures transférées depuis la surface d'un échantillon en réalisant une empreinte de surface de l'échantillon sur un milieu gélosé nutritif (méthode utilisant des boîtes de contact). Des éprouvettes de papier, de carton ou de pâte commerciale sèche sous forme de feuilles sont maintenues pressées contre la surface de boîtes de contact de milieu de culture gélosé spécifié pendant 10 s, à température ambiante. Le temps de contact entre l'échantillon et le milieu gélosé nutritif à température ambiante est de 5 h pour les bactéries et de 20 h pour les levures et les moisissures. Les éprouvettes sont ensuite retirées et les boîtes de contact sont incubées à $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant 2 jours pour les bactéries et à $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant 3 jours à 5 jours pour les levures et les moisissures. À l'issue de la période d'incubation, le nombre d'UFC de bactéries, de levures et de moisissures sur les boîtes de contact est comptabilisé et le nombre d'UFC de bactéries, et de levures et de moisissures transférées par surface d'essai de 100 cm^2 est calculé.

5 Milieux de culture - Boîtes de contact pour les bactéries, les levures et les moisissures

Des boîtes de contact RODAC (replicate organism detection and counting - détection et dénombrement des répliquations d'organismes) normalisées doivent être utilisées. La conception de la boîte permet de verser une surface convexe surélevée du milieu de culture pour assurer un contact total de cette surface avec celle de la zone échantillonnée. Le fond de la boîte peut être quadrillé.

Le diamètre et la superficie des boîtes varient en fonction du type de surface à échantillonner, mais des boîtes de contact prêtes à l'emploi de 55 mm de diamètre sont disponibles dans le commerce. Les boîtes de contact facilitent la réalisation d'essais microbiens de surface simples et reproductibles.

Pour les bactéries, des boîtes de contact de gélose trypticase soja (TSA) doivent être utilisées. Pour les levures et les moisissures, des boîtes de contact de gélose Sabouraud à 4 % de glucose (SDA) et au chloramphénicol doivent être utilisées.

Pour ce qui concerne le stockage et la durée de conservation, suivre les recommandations données par le fabricant.

NOTE La surface couverte par une boîte RODAC de 55 mm RODAC est de 25 cm^2 .

6 Matériel

Utiliser le matériel courant de laboratoire de microbiologie et en particulier ce qui suit:

6.1 Exigences générales. Le matériel doit être conforme à l'ISO 7218.

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

6.2 Feuille d'aluminium (non revêtue et inerte), enveloppes ou sacs plastiques auto-fermants, pour l'échantillonnage. Les échantillons peuvent être enveloppés tels quels dans une feuille en aluminium, dans des enveloppes stériles prêtes à l'emploi de dimensions différentes ou des sacs plastiques auto-fermants, tous disponibles dans le commerce.

6.3 Incubateur, permettant de maintenir une température constante de $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ et de $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

- 6.4 Boîtes de Petri**, suffisamment grandes pour contenir les boîtes de contact.
- 6.5 Paire de ciseaux en acier inoxydable** stérilisés à la flamme pour découper l'échantillon.
- 6.6 Gabarit** stérilisé à la flamme pour découper l'échantillon.
- 6.7 Pincettes ou brucelles** stérilisées à la flamme.
- 6.8 Facultatif: Matériel de dénombrement des colonies**, équipé d'une loupe avec un grossissement d'au moins $\times 1,5$ pour faciliter le dénombrement de colonies de petites bactéries.
- 6.9 Poids**, d'une masse de 500 g.

7 Échantillonnage

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

Si l'échantillon représente un lot de papier ou de carton, l'échantillonnage doit être conforme à l'ISO 186. Si l'échantillon représente un lot de pâte, l'échantillonnage doit être conforme à l'ISO 7213. Retirer plusieurs feuilles du dessus de chaque balle de pâte commerciale sèche à échantillonner pour éliminer la contamination en surface. Découper plusieurs couches supérieures et inférieures 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 à travers plusieurs feuilles.

Dans les autres cas, échantillonner un nombre suffisant d'unités pour que le matériau pour essai soit représentatif du papier, du carton ou de la pâte commerciale sèche à soumettre à essai. Pour tous les modes opératoires d'échantillonnage ou d'analyse, s'assurer que le matériau pour essai est représentatif de l'échantillon reçu.

ISO 8784-2:2023

Dans l'idéal, il convient qu'un échantillon de pâte commerciale sèche, de papier ou de carton contienne au moins douze feuilles (dont au moins dix feuilles pour les essais et deux servant à la protection), ayant chacune une dimension minimale de 200 mm \times 250 mm.

Après l'échantillonnage, envelopper le matériau pour essai non exposé dans un emballage approprié (6.2).

8 Préparation du matériau pour essai

Il est préférable d'effectuer le mode opératoire dans des conditions d'asepsie. Si une hotte à flux laminaire est disponible, il est recommandé de l'utiliser pour la mise en contact des boîtes et des éprouvettes.

Déballer l'échantillon dans des conditions d'asepsie et retirer les feuilles protectrices sans toucher les feuilles d'essai. À l'aide de ciseaux stérilisés et d'un gabarit, découper des éprouvettes de (60 mm \times 60 mm) dans les échantillons en éliminant les bords. Ces morceaux de papier à soumettre à essai ne doivent pas être touchés. Leur taille doit être plus grande que celle de la boîte de contact et ils doivent pouvoir être déposés dans une boîte de Petri (selon le type d'échantillons, des éprouvettes carrées de 60 mm \times 60 mm ou des éprouvettes rondes de 80 mm de diamètre pour des boîtes de Petri de 90 mm de diamètre).

Cinq éprouvettes sont nécessaires pour chaque échantillon et la surface analysée totale doit être d'au moins 100 cm².

Si les deux faces des éprouvettes doivent être soumises à essai, effectuer deux expériences distinctes. Si une seule face est soumise à essai, indiquer quelle face a été soumise à essai dans le rapport d'essai.

Chaque éprouvette doit être conservée dans des boîtes de Petri stériles en vue d'un traitement ultérieur (face à soumettre à essai vers le haut).

NOTE Il est possible de découper des éprouvettes de tailles différentes.

9 Mode opératoire

9.1 Conditions

Il convient que ce mode opératoire soit réalisé dans des conditions d'asepsie. Il convient que le plan de travail soit nettoyé avec un désinfectant approprié. Si une hotte à flux laminaire est disponible, il est recommandé de l'utiliser.

9.2 Recueil de bactéries, de levures et de moisissures

Pour la détermination des bactéries, placer la boîte de Petri contenant l'éprouvette sur une surface plane et horizontale. Enlever le couvercle de la boîte de Petri et maintenir la gélose convexe de la boîte de contact TSA fermement appuyée contre la surface à évaluer pendant 10 s, sans décrire de mouvement latéral contre la surface d'essai, en exerçant une pression uniforme sur toute la boîte à l'aide d'un poids de 500 g.

Après avoir exercé une pression pendant 10 s, retirer la masse, remettre le couvercle de la boîte de Petri et maintenir le contact entre la boîte de contact et l'éprouvette à température ambiante ($23\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) pendant 5 h. À l'issue de ce temps de contact, retirer la boîte de contact sans décrire de mouvement latéral contre la surface d'essai. Remettre le couvercle de la boîte de contact. Répéter ces étapes pour chacune des cinq éprouvettes.

Pour la détermination des levures et des moisissures, utiliser le même mode opératoire avec les boîtes de contact SDA au chloramphénicol. Après avoir exercé une pression pendant 10 s, retirer le poids, remettre le couvercle de la boîte de Petri et maintenir le contact entre la boîte de contact et l'éprouvette à température ambiante ($23\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) pendant 20 h. À l'issue de ce temps de contact, retirer la boîte de contact sans décrire de mouvement latéral contre la surface d'essai. Remettre le couvercle de la boîte de contact. Répéter ces étapes pour chacune des cinq éprouvettes.

Une représentation schématique du mode opératoire est donnée à la [Figure 1](#).