

PROJET DE NORME INTERNATIONALE

ISO/DIS 8784-3

ISO/TC 6/SC 2

Secrétariat: SIS

Début de vote:
2019-04-08

Vote clos le:
2019-07-01

Pâtes, papiers et cartons — Analyse microbiologique —

Partie 3: Dénombrement des levures et des moisissures basé sur la désintégration

Pulp, paper and board — Microbiological examination —

Part 3: Enumeration of yeast and mould based on disintegration

ICS: 07.100.99; 85.040; 85.060

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO/DIS 8784-3](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8030a940-4c6c-4d09-988c-8f0542bdc63a/iso-dis-8784-3)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8030a940-4c6c-4d09-988c-8f0542bdc63a/iso-dis-8784-3>

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.

Le présent document est distribué tel qu'il est parvenu du secrétariat du comité.



Numéro de référence
ISO/DIS 8784-3:2019(F)

© ISO 2019

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO/DIS 8784-3](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8030a940-4c6c-4d09-988c-8f0542bdc63a/iso-dis-8784-3)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8030a940-4c6c-4d09-988c-8f0542bdc63a/iso-dis-8784-3>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en oeuvre, 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, Geneva
Tél.: +41 22 749 01 11
Fax: +41 22 749 09 47
E-mail: copyright@iso.org
Website: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire	Page
Avant-propos.....	iv
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 levures et de moisissures.....	2
5.4 Diluants.....	3
5.5 Surfactant non ionique.....	3
6 Appareillage et matériel.....	3
7 Échantillonnage.....	4
8 Préparation du matériau pour essai.....	5
8.1 Généralités.....	5
8.2 Pesée.....	5
8.3 Désintégration.....	5
9 Détermination du nombre de levures et de moisissures.....	6
9.1 Généralités.....	6
9.2 Ensemencement relatif au nombre de levures et de moisissures.....	6
9.3 Incubation.....	6
10 Dénombrement des colonies.....	6
11 Calcul et expression des résultats.....	7
11.1 Calcul.....	7
11.2 Interprétation.....	8
11.3 Rapport.....	8
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 (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/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 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 le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/foreword.html.

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 peut être consultée sur le site 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/members.html.

Pâtes, papiers et cartons — Analyse microbiologique — Partie 3: Dénombrement des levures et des moisissures basé sur la désintégration

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 8784 spécifie une méthode de détermination du nombre total d'unités formant colonie de levures et de moisissures dans de la pâte commerciale sèche, le papier et le carton, après désintégration. Le dénombrement se rapporte à un milieu spécifique.

2 Références normatives

Les documents suivants sont référencés dans le texte de telle sorte qu'une partie ou la totalité de leur contenu constitue les 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 638, *Papiers, cartons et pâtes — Détermination de la teneur en matières sèches — Méthode par séchage à l'étuve*

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 7213, *Pâtes — Échantillonnage pour essais*

ISO 7218, *Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations*

ISO 11133, *Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau — Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture*

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 <http://www.electropedia.org/>

3.1

levure

micro-organisme aérobic, mésophile qui, à 25 °C et en utilisant un milieu gélosé mycologique dans les conditions décrites dans la présente partie de l'ISO 8784, se développe à la surface du milieu en formant des colonies rondes, mates ou brillantes, présentant le plus souvent un contour régulier et une surface plus ou moins convexe

Note 1 à l'article : Des levures se développant en profondeur, plutôt qu'à la surface, d'un milieu forment des colonies rondes et lenticulaires.

3.2

moisissure

micro-organisme aérobic, mésophile filamenteux qui, à la surface d'un milieu gélosé mycologique et dans les conditions décrites dans la présente partie de l'ISO 8784 développe habituellement des propagules/germes plats ou duveteux ou des colonies présentant souvent des fructifications colorées et des formes de sporulation

Note 1 à l'article : Des moisissures se développant en profondeur, plutôt qu'à la surface, d'un milieu peuvent former des colonies rondes et lenticulaires.

3.3

dénombrement des levures et des moisissures

nombre d'unités formant colonie (UFC) de levures et de moisissures, 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

(standards.iteh.ai)

La présente méthode d'ensemencement en profondeur 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 est ensemencée dans une gélose.

Les boîtes sont incubées à (25 ± 1) °C pendant 3 à 5 jours. Le nombre total de levures et de moisissures est obtenu par dénombrement des colonies formées dans la gélose. Les résultats sont exprimés en nombre d'UFC 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 les mélangeant pendant qu'ils chauffent avant de les répartir dans des récipients appropriés pour la stérilisation. Voir l'ISO 11133 relative 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 11133.

5.3 Milieux de culture relatifs au nombre total de levures et de moisissures

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. Des 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 11133.

Composition par litre de la gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA) :

- Extraits de pomme de terre 200,0 g ;
- Dextrose 20,0 g ;
- Gélose 15,0 g ;
- Eau 1 000 ml ;
- pH final $5,6 \pm 0,2$.

Afin d'abaisser le pH à $3,5 \pm 0,1$ ajouter approximativement 14 ml de solution stérile d'acide tartrique à 10 %/litre à une température de 45 °C, inhibant ainsi la croissance bactérienne.

Les boîtes sont transparentes et brun-jaunâtre.

Après l'ajout de l'acide tartrique, ne pas conserver de reliquat.

5.4 Diluants

Solution de Ringer titrée à $\frac{1}{4}$

Composition par litre :

- chlorure de sodium (NaCl) 2,250 g ;
- chlorure de potassium (KCl) 0,105 g ;
- chlorure de calcium ($\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) 0,120 g ;
- hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO_3) 0,050 g ;
- eau 1 000 ml. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8030a940-4c6c-4d09-988c-8f0542bdc63a/iso-dis-8784-3>

NOTE 1 Il est préférable d'utiliser la solution de Ringer bien que d'autres solutions isotoniques puissent être utilisées. Voir l'ISO 68871.

NOTE 2 Des pastilles Ringer sont disponibles dans le commerce.

5.5 Surfactant non ionique

Monooléate de polyoxyéthylène sorbitane (Tween 80).

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

6 Appareillage et matériel

6.1 Généralités

Il est admis de remplacer la verrerie réutilisable et le plastique par un appareillage jetable si celui-ci a des spécifications appropriées.

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

NOTE Pour des conseils sur le matériel de microbiologie courant, voir l'ISO 7218.

Matériel courant de laboratoire de microbiologie et en particulier ce qui suit :

6.2 Appareillage pour stérilisation (chaleur humide et chaleur sèche)

- a) pour la stérilisation par chaleur humide, un autoclave pouvant être maintenu à 121_0^{+3} °C pendant au moins 15 min ;
- b) pour la stérilisation par chaleur sèche, un four à air chaud pouvant être maintenu à 180_0^{+5} °C pendant au moins 30 min, à 170_0^{+5} °C pendant au moins 1 h ou à 160_0^{+5} °C pendant au moins 2 h.

6.3 Poste de sécurité biologique, classe II.

6.4 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.

6.5 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.

6.6 Incubateur, permettant de maintenir une température constante de (25 ± 1) °C.

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

6.8 Pipette, d'un volume approprié et 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.

6.9 Matériel de dénombrement des colonies ou dispositif grossissant, d'un grossissement compris entre 1,5 x et 2,5 x.

6.10 Balance, avec une exactitude de 0,01 g.

6.11 Dispositifs de découpe, tels que des ciseaux, des bistouris et/ou des couteaux.

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. 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 à travers plusieurs couches de l'échantillon de papier ou de carton, pour produire une pile. Retirer la feuille supérieure.

Si l'échantillon représente un lot de pâte, l'échantillonnage doit être conforme à l'ISO 7213. Retirer plusieurs feuilles du dessus de chaque bale de pâte commerciale sèche pour éliminer la contamination en surface.

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 prélevé est représentatif de l'échantillon reçu.

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

NOTE Pour le carton ou un matériau plus épais, il se peut qu'une seule feuille suffise pour la détermination. Pour le papier plus fin, plus de deux feuilles peuvent être utilisées pour la détermination.

Après l'échantillonnage, envelopper le matériau pour essai non exposé dans un emballage approprié (6.3).

8 Préparation du matériau pour essai

8.1 Généralités

Il est préférable d'effectuer le mode opératoire dans des conditions d'asepsie. Une hotte à flux laminaire est recommandée pour la découpe/l'ensemencement. Déballez le matériau pour essai dans des conditions d'asepsie. Retirez les feuilles protectrices en haut et en bas de la pile d'échantillons, sans toucher les feuilles d'essai au centre de la pile.

Si le résultat doit être exprimé en fonction de la masse sèche, déterminer la teneur en matière sèche du matériau pour essai, X , conformément à l'ISO 638.

Si le résultat doit être exprimé en fonction de la « masse en l'état » (et non en fonction de la masse sèche), ne pas tenir compte de la teneur en masse sèche et le consigner [voir 11.1 et Article 12].

8.2 Pesée

Poser une boîte de Petri fermée (6.7) sur le plateau de la balance et déterminer la tare.

Tenir la ou les feuilles d'une main par un bord avec des pinces stériles et couper et éliminer les bords restants avec des ciseaux stériles. Découper le matériau pour essai en petits morceaux. Peser une quantité suffisante du matériau pour essai (masse d'environ 2 g à 3 g), m , dans la boîte de Petri, pour pouvoir préparer une suspension fibreuse d'une concentration de 1 %.

NOTE Afin de réduire le temps de désintégration, il peut être utile de découper des morceaux de taille inférieure à 5 mm.

Transvaser, dans des conditions d'asepsie, le matériau pour essai dans le récipient du désintégrateur (6.5). S'assurer de la stérilité du désintégrateur (6.5) pour chaque matériau pour essai.

8.3 Désintégration

Utiliser la solution de diluant froide ajustée à température ambiante (5.4). Éviter la surchauffe (augmentation de la température de la suspension supérieure à 45 °C) pendant la désintégration compte tenu de ses effets sur le nombre de micro-organismes. S'assurer de la stérilité du désintégrateur (6.5) pour chaque matériau pour essai.

Désintégrer le matériau pour essai (8.2) dans la solution de diluant (5.4) pour obtenir une suspension fibreuse de 1 % (pour 2,0 g de matériau pour essai, il convient d'utiliser un volume de 200 ml de diluant et pour 3,0 g, il convient d'utiliser 300 ml). Désintégrer la suspension jusqu'à ce qu'elle soit exempte d'amas de fibres.

S'il est difficile d'obtenir une suspension fibreuse exempte d'amas de fibres en utilisant un désintégrateur, un autre matériel approprié avec une efficacité équivalente peut être utilisé et ceci doit être consigné dans le rapport d'essai.