

ISO/TC 34/SC 9

Secrétariat: AFNOR

Début de vote:
2020-12-29

Vote clos le:
2021-02-23

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthodes de détection des larves L3 d'Anisakidae dans le poisson et les produits de la pêche —

Partie 1: Méthode presse/UV

*Microbiology of the food chain — Methods for the detection of
Anisakidae L3 larvae in fish and fishery products —*

Part 1: UV-press method

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e12201c5-9458-4fff-9ad2-bae11eae9abc/iso-fdis-23036-1>

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.

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.

TRAITEMENT PARALLÈLE ISO/CEN



Numéro de référence
ISO/FDIS 23036-1:2020(F)

© ISO 2020

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO/FDIS 23036-1

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e12201c5-9458-4fff-9ad2-bae11eae9abc/iso-fdis-23036-1>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2020

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 Équipement et consommables	2
6 Échantillonnage	2
7 Mode opératoire	3
7.1 Pesage de l'échantillon.....	3
7.2 Préparation de l'échantillon.....	3
7.3 Passage sous presse.....	3
7.4 Congélation.....	3
7.5 Décongélation.....	3
7.6 Inspection visuelle.....	3
8 Expression des résultats	4
9 Caractéristiques de performance de la méthode	4
10 Rapport d'essai	4
11 Assurance qualité	5
Annexe A (informative) Prélèvement d'échantillons	6
Annexe B (informative) Constatations après la méthode presse/UV	7
Annexe C (informative) Exemple de fiche de laboratoire pour la consignation des données lors de l'examen des filets de poisson à l'aide de la méthode presse/UV	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 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 le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le Comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*, en collaboration avec le Comité technique CEN/TC 275, *Analyse des produits alimentaires — Méthodes horizontales*, du Comité européen de normalisation (CEN), conformément à l'Accord sur la coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Une liste de toutes les parties de la série ISO 23036 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

Les nématodes de la famille des Anisakidae présentent un cycle de vie complexe impliquant un nombre élevé d'hôtes. Au stade adulte, les Anisakidae pénètrent dans la muqueuse de l'estomac des mammifères marins. Les œufs non embryonnés produits par les femelles adultes sont excrétés avec les fèces des mammifères marins et sont embryonnés dans le milieu marin, où les larves de premier stade (L1) se développent dans les œufs. Les larves muent pour se transformer en larves libres de deuxième stade (L2), puis, si elles sont ingérées par des crustacés, en larves de troisième stade (L3). Ce stade est infectieux pour les poissons et les calamars et les larves sont transférées d'un poisson à un autre par le biais de la prédation, en restant au stade L3. Certaines larves migrent de la cavité abdominale vers les tissus musculaires. Les humains sont des hôtes accidentels, susceptibles d'être infectés après avoir ingéré du poisson ou des céphalopodes crus ou insuffisamment cuits contenant des larves L3 viables.

Les nématodes de la famille des Anisakidae sont les agents pathogènes de l'anisakidose humaine, une maladie qui constitue non seulement une menace pour la santé publique, mais aussi un problème d'ordre économique pour le secteur de la pêche et de sécurité des aliments (le terme anisakiase, qui désigne la maladie provoquée par les membres du genre *Anisakis*, est également parfois utilisé). Dans le monde entier, les poissons marins et anadromes sauvages constituent des hôtes intermédiaires d'Anisakidae, tandis que les mammifères marins en sont les hôtes définitifs.

Des procédures d'inspection visuelle visant à détecter les larves d'Anisakidae dans les poissons sont mises en œuvre afin de limiter le risque que des poissons contaminés atteignent le consommateur^{[1],[2]} et ainsi d'empêcher l'apparition de l'anisakidose humaine.

Le passage sous presse hydraulique suivi de l'observation sous lumière UV, ainsi que la digestion artificielle de tissus musculaires de poissons sont les méthodes qui ont été spécialement conçues pour détecter les larves de nématodes dans les poissons et évaluer le niveau d'infestation d'un lot, et qui ont été validées et soumises à essai dans des études comparatives interlaboratoires^[3] (voir [Article 10](#)).

[ISO/FDIS 23036-1](https://standards.iso.org/standards/catalog/standards/sist/e12201c5-9458-4fff-9ad2-bae11eae9abc/iso-fdis-23036-1)

<https://standards.iso.org/standards/catalog/standards/sist/e12201c5-9458-4fff-9ad2-bae11eae9abc/iso-fdis-23036-1>

iTeh STANDARD PREVIEW **(standards.iteh.ai)**

ISO/FDIS 23036-1

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e12201c5-9458-4fff-9ad2-bae11eae9abc/iso-fdis-23036-1>

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthodes de détection des larves L3 d'Anisakidae dans le poisson et les produits de la pêche —

Partie 1: Méthode presse/UV

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode de détection des larves L3 d'Anisakidae qui se trouvent fréquemment dans les poissons marins et anadromes. La méthode s'applique aux poissons frais et/ou surgelés, ainsi qu'aux produits à base de poisson légèrement transformés, c'est-à-dire marinés, salés ou fumés à froid.

Cette méthode s'applique à la quantification des infestations parasitaires en estimant le nombre de parasites dans les tissus musculaires des poissons.

Cette méthode ne s'applique pas à la détermination des espèces ou du génotype des parasites détectés. Des méthodes morphologiques et/ou moléculaires permettent une identification définitive.

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

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

larves L3 d'Anisakidae

larves de troisième stade (L3) appartenant à la famille des Anisakidae, et plus particulièrement aux genres *Anisakis*, *Contracaecum* et *Pseudoterranova*

Note 1 à l'article: Pour des raisons pratiques, le genre *Hysterothylacium* qui appartient à la famille des *Raphidascarididae* et est déjà classé parmi les Anisakidae, peut aussi être inclus.

3.2

méthode presse/UV

méthode permettant de détecter les larves d'Anisakidae dans les tissus musculaires de poissons par observation sous lumière UV après passage sous presse et congélation

Note 1 à l'article: Sous la lumière UV, les larves L3 apparaissent comme de vives taches fluorescentes de différentes couleurs, en fonction notamment de l'espèce d'Anisakidae.

4 Principe

La méthode presse/UV^[4] repose sur la caractéristique particulière des larves d'Anisakidae congelées, qui deviennent fluorescentes sous la lumière UV en raison de la présence du pigment («lipochrome») lipofuscine. La détection des nématodes est fondée sur l'observation sous lumière UV de filets aplatis et congelés de poissons frais ou décongelés. La méthode peut aussi être utilisée pour rechercher des parasites dans des poissons de plus grande taille, comme le saumon atlantique (*Salmo salar*) d'élevage, le cabillaud (*Gadus* spp.) ou le flétan (*Hippoglossus hippoglossus*). Dans ces cas, chaque filet ou flanc de poisson est à découper en petits morceaux, qui sont ensuite traités et examinés séparément. Les échantillons sont placés dans des sacs en plastique transparents, écrasés pour atteindre une épaisseur de 1 mm à 2 mm, puis congelés. Après la congélation et la décongélation des filets, une inspection visuelle est réalisée en examinant chaque sac contenant un filet sous une lumière UV à une longueur d'onde de 366 nm. Les larves de nématodes d'Anisakidae éventuellement présentes apparaîtront comme de vives taches fluorescentes, ce qui permet de les répertorier facilement et de déterminer le foyer approximatif d'infection.

Des preuves empiriques laissent entendre que les larves d'Anisakidae tuées par la cuisson, le salage et la saumure présentent une vive fluorescence sans congélation préalable. Par conséquent, cette méthode peut être utilisée pour détecter les nématodes dans ces produits.

Aucun contrôle qualité interne ne peut être effectué pendant la mise en œuvre de cette méthode.

NOTE D'autres méthodes peuvent être utilisées pour l'analyse, sous réserve que leur équivalence avec les méthodes décrites dans le présent document soit démontrée.

5 Équipement et consommables

Matériel de laboratoire de microbiologie (conforme à l'ISO 7218) et notamment ce qui suit.

5.1 Système de presse à vide, une presse hydraulique manuelle ou automatique d'une pression de service comprise entre 7 bar et 8 bar.

5.2 Sacs en plastique transparents, de dimensions et d'une épaisseur appropriées (par exemple, 300 mm x 700 mm x 0,075 mm en polyéthylène basse densité (LDPE)). La taille du sac en plastique dépend de la taille de l'échantillon, mais aussi de celle de la presse (par exemple, pour des filets de harengs, des sacs de 700 mm de long sur 300 mm de large peuvent être utilisés).

5.3 Source de lumière UV, d'une longueur d'onde de 366 nm.

5.4 Congélateur à -20 °C.

6 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans le présent document, mais est présenté à l'Annexe A. Si aucune Norme internationale n'aborde l'échantillonnage de poisson, il est recommandé aux parties concernées de s'entendre à ce sujet.

7 Mode opératoire

AVERTISSEMENT — Il convient que des mesures générales de sécurité soient respectées en cas d'utilisation de lumière UV (éviter tout contact cutané prolongé, par exemple). Il convient de porter des lunettes de protection ou d'installer un film anti-UV adapté au type de lampe à UV sur les vitres de la chambre d'observation. Il convient de prêter une attention particulière lors de la manipulation de la presse afin d'éviter toute blessure du personnel procédant à l'essai.

7.1 Pesage de l'échantillon

Chaque échantillon doit être pesé et son poids doit être consigné.

7.2 Préparation de l'échantillon

Le poisson frais ou congelé doit être éviscéré et découpé en filets et chaque filet/côté chair doit être placé dans un sac en plastique transparent distinct (pas nécessaire pour les petits poissons). Procéder de la même manière si l'échantillon à soumettre à essai est du poisson légèrement transformé.

Il convient de retirer la peau des filets de poisson à la peau épaisse (tambour rouge ou saumon, par exemple), celle-ci étant susceptible de nuire à l'inspection visuelle sous lumière UV.

Aucune taille d'échantillon individuel minimale n'est imposée et la taille maximale dépend du type de presse. Pour les poissons de plus grande taille, comme le saumon atlantique, le cabillaud ou le flétan, chaque filet ou côté chair peut être découpé en morceaux plus petits en vue d'être traité et examiné séparément.

7.3 Passage sous presse (standards.iteh.ai)

Placer chaque sac contenant des filets dans une presse hydraulique manuelle ou automatique d'une pression de 7 bar à 8 bar et actionner la presse pendant un temps de maintien d'au moins 5 s jusqu'à ce que les échantillons atteignent une épaisseur de 1 mm à 2 mm.

Un cadre en acier inoxydable peut être utilisé afin de garantir une épaisseur plus régulière. Les conditions de passage sous presse indiquées sont des conditions recommandées, mais pas obligatoires.

7.4 Congélation

Après passage sous presse, placer les sacs contenant les filets dans un congélateur classique à -20 °C jusqu'à ce que les filets soient entièrement congelés (24 h en général).

En cas de recours à du poisson déjà congelé, il n'est pas nécessaire de congeler à nouveau les échantillons aplatis et il est admis de procéder à l'étape d'inspection directement après le passage sous presse.

7.5 Décongélation

Avant de procéder à l'essai, il convient que les échantillons soient complètement décongelés à 4 °C ou plus sans toutefois dépasser la température ambiante.

Le temps écoulé entre la décongélation et l'inspection ne doit pas dépasser 12 h à température ambiante, au risque que les larves d'Anisakidae perdent leur fluorescence.

La décongélation n'est pas nécessaire si les résultats sont requis de toute urgence, la fluorescence étant aussi visible sur les échantillons congelés.

7.6 Inspection visuelle

Placer les sacs contenant les filets de poisson décongelés sous une source de lumière UV à une longueur d'onde de 366 nm dans une chambre noire. Il convient que le dispositif d'éclairage UV soit équipé de lumières inférieure et supérieure. Il est recommandé d'utiliser un dispositif constitué de six tubes