
NORME INTERNATIONALE



3565

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

Viandes et produits à base de viande — Recherche des *salmonellæ* (Méthode de référence)

Meat and meat products — Detection of salmonellæ (Reference method)

Première édition — 1975-09-01

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 3565:1975](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2152000-dc18-466c-80b1-27f64496b1eb/iso-3565-1975)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2152000-dc18-466c-80b1-27f64496b1eb/iso-3565-1975>

CDU 637.5 : 576.851.46

Réf. n° : ISO 3565-1975 (F)

Descripteurs : viande, produit à base de viande, analyse microbiologique, détection, salmonellæ.

Prix basé sur 11 pages

AVANT-PROPOS

L'ISO (Organisation Internationale de Normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (Comités Membres ISO). L'élaboration de Normes Internationales est confiée aux Comités Techniques ISO. Chaque Comité Membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du Comité Technique correspondant. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO, participent également aux travaux.

Les Projets de Normes Internationales adoptés par les Comités Techniques sont soumis aux Comités Membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes Internationales par le Conseil de l'ISO.

La Norme Internationale ISO 3565 a été établie par le Comité Technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et soumise aux Comités Membres en mai 1974.

(standards.iteh.ai)

Elle a été approuvée par les Comités Membres des pays suivants :

Afrique du Sud, Rép. d'	Éthiopie	Pays-Bas
Allemagne	Espagne	Pologne
Australie	France	Roumanie
Autriche	Hongrie	Thaïlande
Belgique	Inde	Turquie
Bulgarie	Iran	Yougoslavie
Canada	Israël	
Égypte, Rép. arabe d'	Mexique	

Les Comités Membres des pays suivants ont désapprouvé le document pour des raisons techniques :

Nouvelle-Zélande
Royaume-Uni

Viandes et produits à base de viande — Recherche des *salmonellæ* (Méthode de référence)

1 OBJET

La présente Norme Internationale spécifie une méthode de référence pour la recherche des *salmonellæ* dans les viandes et produits à base de viande.

2 DOMAINE D'APPLICATION

La méthode peut être appliquée à toutes sortes de viandes et de produits à base de viande.

3 RÉFÉRENCE

ISO 3100, *Viandes et produits à base de viande — Échantillonnage.*

4 DÉFINITIONS

4.1 *salmonellæ*: Micro-organismes qui forment des colonies typiques sur des milieux solides et sélectifs et qui possèdent les caractéristiques biochimiques et sérologiques décrites lorsque l'essai est exécuté selon la présente méthode.

4.2 recherche des *salmonellæ*: Détermination de la présence ou de l'absence de ces micro-organismes, dans une quantité déterminée de produit, lorsque l'essai est exécuté selon la méthode décrite.

5 PRINCIPE

La recherche des *salmonellæ* nécessite quatre phases successives, parce que, habituellement, elles sont peu nombreuses, parfois endommagées, et souvent accompagnées d'une quantité beaucoup plus importante d'autres *Enterobacteriaceæ*.

5.1 **Pré-enrichissement**: incubation des échantillons dans un milieu liquide non sélectif à 37 °C.

5.2 **Enrichissement**: inoculation de deux milieux liquides sélectifs avec le milieu incubé du pré-enrichissement, puis incubation respectivement à 37 °C ou à 42-43 °C.

5.3 **Isolement**: inoculation des deux milieux d'enrichissement sur des milieux d'identification solides et

sélectifs qui, après incubation à 37 °C, sont examinés pour contrôler s'il y a présence de colonies, présumées être des *salmonellæ* en raison de leurs caractéristiques.

5.4 **Confirmation**: repiquage des colonies de *salmonellæ* présumées et détermination de leurs caractéristiques biochimiques et sérologiques appropriées.

6 MILIEUX DE CULTURE ET RÉACTIFS

6.1 Composants de base

Afin d'obtenir des résultats uniformes, il est recommandé d'utiliser des composants de base déshydratés uniformes et des produits chimiques de pureté analytique, ou des milieux complets déshydratés uniformes. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté équivalente.

NOTE — En ce qui concerne le vert brillant, voir les spécifications données dans l'annexe. Si l'on utilise des milieux complets déshydratés, ils doivent être préparés et utilisés selon les recommandations des fabricants.

6.2 Milieux de culture

6.2.1 Eau peptonée tamponnée

Composition

peptone	10,0 g
chlorure de sodium	5,0 g
monohydrogénophosphate de sodium ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	9,0 g
dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)	1,5 g
eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau en portant à ébullition.

Ajuster le pH de ~~l'eau~~ sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,0 \pm 0,1$ à 20 °C.

Répartir le milieu par quantités de 225 ml dans des flacons de 500 ml de capacité.

Stériliser le milieu durant 20 min à 121 ± 1 °C.

6.2.2 Milieu au tétrathionate (Müller-Kauffmann)

6.2.2.1 MILIEU DE BASE

Composition

extrait de viande	5,0 g
peptone	10,0 g
chlorure de sodium	3,0 g
carbonate de calcium	45 g
eau	1 000 ml

Préparation

Ajouter les composants de base déshydratés ou le milieu de base déshydraté complet, à l'eau, en portant à ébullition, jusqu'à dissolution complète des composants solubles.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,0 \pm 0,1$ à 20°C .

Stériliser le milieu de base durant 20 min à $121 \pm 1^\circ\text{C}$.

6.2.2.2 SOLUTION DE THIOSULFATE DE SODIUM

Composition

thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	50,0 g
eau, quantité suffisante pour	100 ml

Préparation

Dissoudre le thiosulfate de sodium dans une partie de l'eau.

Compléter au volume final.

Stériliser la solution durant 20 min à $121 \pm 1^\circ\text{C}$.

6.2.2.3 SOLUTION D'IODE

Composition

iode	20,0 g
iodure de potassium	25,0 g
eau, quantité suffisante pour	100 ml

Préparation

Dissoudre l'iodure de potassium dans un petit volume d'eau et ajouter l'iode.

Agiter jusqu'à dissolution complète.

Compléter au volume final.

Conserver la solution dans un récipient opaque parfaitement fermé.

6.2.2.4 SOLUTION VERT BRILLANT

Composition

vert brillant	0,5 g
eau	100 ml

Préparation

Ajouter le vert brillant à l'eau.

Conserver la solution au moins une journée à l'obscurité pour provoquer l'auto-stérilisation.

6.2.2.5 SOLUTION DE BILE DE BŒUF

Composition

bile de bœuf desséchée	10,0 g
eau	100 ml

Préparation

Dissoudre la bile de bœuf desséchée dans l'eau en portant à ébullition.

Stériliser la solution durant 20 min à $121 \pm 1^\circ\text{C}$.

6.2.2.6 MILIEU COMPLET

Composition

milieu de base (6.2.2.1)	900 ml
solution de thiosulfate de sodium (6.2.2.2)	100 ml
solution d'iode (6.2.2.3)	20 ml
solution de vert brillant (6.2.2.4)	2 ml
solution de bile de bœuf (6.2.2.5)	50 ml

Préparation

Ajouter au milieu de base les autres composants dans l'ordre ci-dessus, en opérant de façon stérile.

Bien mélanger les liquides après chaque addition.

Transvaser stérilement le milieu complet dans des flacons stériles de 500 ml de capacité, à raison de 100 ml par flacon.

Conserver à 4°C à l'obscurité jusqu'au moment de l'emploi, mais utiliser dans la semaine suivant la préparation.

6.2.3 Milieu au sélénite – vert brillant (Stokes et Osborne)

6.2.3.1 MILIEU DE BASE

Composition

peptone	5,0 g
extrait de levure	5,0 g
mannitol	5,0 g
taurocholate de sodium	1,0 g
hydrogénosélénite de sodium	4,0 g
eau	900 ml

Préparation

Dissoudre les quatre premiers ingrédients (c'est-à-dire les composants de base déshydratés ou le milieu de base déshydraté) dans l'eau en faisant bouillir durant 5 min.

Ajouter, après refroidissement, l'hydrogénosélénite de sodium.

Ajuster le pH à $7,0 \pm 0,1$ à 20°C .

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 3565:1975

http://standards.iteh.ai/en/standards/sis/b2152000-dc18-466c-80b1-2784496b1eb/iso-3565-1975

DE

environ
0,5 g

Conserver à 4 °C à l'obscurité jusqu'au moment de l'emploi, mais utiliser dans la semaine suivant la préparation.

6.2.3.2 SOLUTION TAMPON

Composition

Solution A

dihydrogéo-orthophosphate de potassium
(KH_2PO_4) 34,0 g
eau 1 000 ml

Dissoudre le dihydrogéo-orthophosphate de potassium dans l'eau.

Solution B

monohydrogéo-orthophosphate de potassium
(K_2HPO_4) 43,6 g
eau 1 000 ml

Dissoudre le monohydrogéo-orthophosphate de potassium dans l'eau.

Préparation

Mélanger 2 volumes de solution A et 3 volumes de solution B, de façon à obtenir une solution de pH $7,0 \pm 0,1$ à 20 °C.

6.2.3.3 SOLUTION AU VERT BRILLANT

Pour la composition et la préparation de cette solution, voir 6.2.2.4.

6.2.3.4 MILIEU COMPLET

Composition

milieu de base (6.2.3.1) 900 ml
solution tampon (6.2.3.2) 100 ml
solution au vert brillant (6.2.3.3) 1 ml

Préparation

Ajouter la solution tampon au milieu de base.

Chauffer à 80 °C.

Refroidir et ajouter la solution au vert brillant.

Transvaser le milieu complet dans des flacons stériles de 500 ml de capacité, à raison de 100 ml par flacon.

Utiliser le milieu le jour de la préparation.

6.2.4 Gélose au vert brillant et au rouge de phénol (Edel et Kampelmacher)

6.2.4.1 MILIEU DE BASE

Composition

extrait de viande 4,0 g
peptone 10,0 g
chlorure de sodium 3,0 g

monohydrogéo-orthophosphate de sodium
(Na_2HPO_4) 0,8 g
dihydrogéo-orthophosphate de sodium
(NaH_2PO_4) 0,6 g
gélose facilement soluble¹⁾ 12,0 g
eau 900 ml

Préparation

Dissoudre les composants de base déshydratés ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en opérant à l'ébullition.

Ajuster le pH, de façon qu'après stérilisation il soit de $7,0 \pm 0,1$ à 40 °C.

Transférer le milieu de base dans des tubes ou des flacons de 500 ml de capacité maximale.

Stériliser le milieu de base durant 15 min à 121 ± 1 °C.

6.2.4.2 SOLUTION DE SUCRES AU ROUGE DE PHÉNOL

Composition

lactose 10,0 g
saccharose 10,0 g
rouge de phénol 0,09 g
eau, quantité suffisante pour 100 ml

Préparation

Dissoudre les ingrédients dans l'eau.

Chauffer au bain d'eau durant 20 min à 70 °C.

Refroidir à 55 °C et utiliser immédiatement.

6.2.4.3 SOLUTION AU VERT BRILLANT

Pour la composition et la préparation de cette solution, voir 6.2.2.4.

6.2.4.4 MILIEU COMPLET

Composition

milieu de base (6.2.4.1) 900 ml
solution de sucres au rouge de phénol (6.2.4.2) 100 ml
solution au vert brillant (6.2.4.3) 1 ml

Préparation

En opérant de façon stérile, ajouter la solution au vert brillant à la solution de sucres au rouge de phénol refroidie à environ 55 °C.

Ajouter au milieu de base à 50-55 °C et mélanger.

6.2.4.5 PRÉPARATION DES PLAQUES DE GÉLOSE

Répartir le milieu complet (6.2.4.4) récemment préparé, dont la température est d'environ 45 °C, dans un nombre approprié de grandes boîtes de Petri stériles (7.2.5.1) à

1) Le produit connu sous le nom de marque «Oxoid n° 1» convient.

raison de 40 ml environ par boîte ou, à défaut de grandes boîtes, dans des petites boîtes (7.2.5.2) à raison de 15 ml environ par boîte. Laisser se solidifier.

Juste avant l'emploi, sécher soigneusement les plaques de gélose (de préférence après avoir retiré les couvercles et retourné les boîtes) durant 30 min, dans une étuve ou un incubateur réglé à 50 ± 5 °C.

Si elles ont été préparées à l'avance, les plaques de gélose non séchées ne doivent pas être conservées plus de 4 h à la température du laboratoire ou plus d'un jour au réfrigérateur.

6.2.5 Gélose lactosée à la bile, au rouge neutre et au cristal violet

Composition

extrait de levure	3,0 g
peptone	7,0 g
sels biliaires	1,5 g
lactose	10,0 g
chlorure de sodium	5,0 g
rouge neutre	0,03 g
cristal violet	0,002 g
gélose	15,0 g
eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants de base déshydratés ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en opérant à l'ébullition.

Ajuster le pH, de sorte qu'après ébullition il soit de $7,4 \pm 0,1$ à 40 °C.

Répartir le milieu de culture dans des tubes ou dans des flacons stériles de 500 ml de capacité maximale.

Il n'est pas souhaitable de stériliser le milieu.

S'il est préparé d'avance, le milieu ne doit pas être conservé plus d'une semaine au réfrigérateur.

Préparation des plaques de gélose

Répartir le milieu fondu (6.2.5) dans un nombre approprié de petites boîtes de Petri stériles (7.2.5.2), à raison de 15 ml environ par boîte et opérer comme en 6.2.4.5.

6.2.6 Gélose au citrate de fer et aux trois sucres (gélose TSI)

Composition

extrait de viande	3,0 g
extrait de levure	3,0 g
peptone	20,0 g
chlorure de sodium	5,0 g
lactose	10,0 g
saccharose	10,0 g
glucose	1,0 g
citrate de fer(III)	0,3 g
thiosulfate de sodium	0,3 g
rouge de phénol	0,024 g
gélose	12,0 g
eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants de base déshydratés ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en opérant à l'ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de $7,4 \pm 0,1$ à 40 °C.

Répartir le milieu par quantités de 10 ml dans des tubes de 17 à 18 mm de diamètre.

Stériliser le milieu durant 10 min à 121 ± 1 °C.

Laisser reposer en position inclinée de façon à obtenir un culot de 2,5 cm de profondeur.

6.2.7 Gélose à l'urée (Christensen)

6.2.7.1 MILIEU DE BASE

Composition

peptone	1,0 g
glucose	1,0 g
chlorure de sodium	5,0 g
dihydrogène-orthophosphate de potassium (KH ₂ PO ₄)	2,0 g
rouge de phénol	0,012 g
gélose	15,0 g
eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants de base déshydratés ou le milieu de base complet déshydraté dans l'eau, en opérant à l'ébullition.

Stériliser le milieu de base durant 20 min à 121 ± 1 °C.

6.2.7.2 SOLUTION D'URÉE

Composition

urée	400 g
eau, quantité suffisante pour	1 000 ml

Préparation

Dissoudre l'urée dans l'eau.

Stériliser par filtration et contrôler la stérilité.

(Pour les détails relatifs à la technique de stérilisation par filtration, faire référence à un document approprié sur la microbiologie.)

6.2.7.3 MILIEU COMPLET

Composition

milieu de base (6.2.7.1)	950 ml
solution d'urée (6.2.7.2)	50 ml

Préparation

En opérant de façon stérile, ajouter la solution d'urée au milieu de base.

Ajuster le pH de sorte qu'il soit de $6,8 \pm 0,1$ à 40°C .

Répartir le milieu complet par quantités de 10 ml dans des tubes stériles.

Laisser reposer en position inclinée.

6.2.8 Gélose nutritive semi-solide

Composition

extrait de viande	3,0 g
peptone	5,0 g
gélose	8,0 g
eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants de base déshydratés dans l'eau, en opérant à l'ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de $7,0 \pm 0,1$ à 40°C .

Répartir le milieu dans des flacons de 500 ml de capacité maximale.

Stériliser le milieu durant 20 min à $121 \pm 1^\circ\text{C}$.

Préparation des plaques de gélose

Verser dans des petites boîtes de Pétri stériles (7,2.5.2) environ 15 ml du milieu complet fraîchement préparé. Les plaques ne doivent pas être séchées.

6.2.9 Solution saline

Composition

chlorure de sodium	8,5 g
eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre le chlorure de sodium dans l'eau, en opérant à l'ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de $7,0 \pm 0,1$ à 20°C .

Répartir la solution dans des flacons ou dans des tubes, de façon qu'ils contiennent 90 à 100 ml de diluant après stérilisation.

Stériliser la solution durant 20 min à $121 \pm 1^\circ\text{C}$.

6.2.10 Milieu de décarboxylation à la lysine

Composition

Monohydrochlorure de l-lysine	5,0 g
extrait de levure	3,0 g
glucose	1,0 g
pourpre de bromocrésol	0,015 g
eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau, en opérant à l'ébullition.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de $6,8 \pm 0,1$ à 20°C .

Répartir le milieu par quantités de 5 ml dans des tubes de culture étroits, de 8 mm de diamètre et 160 mm de longueur approximativement.

Stériliser le milieu durant 10 min à $121 \pm 1^\circ\text{C}$.

6.2.11 Réactif à la β -galactosidase

6.2.11.1 SOLUTION TAMPON

Composition

dihydrogéné-orthophosphate de sodium (NaH_2PO_4)	6,9 g
hydroxyde de sodium 0,1 N (4 g/l) environ	3 ml
eau, quantité suffisante pour	50 ml

Préparation

Dissoudre le dihydrogéné-orthophosphate de sodium dans 45 ml d'eau environ.

Ajuster le pH à $7,0 \pm 0,1$ avec environ 3 ml de la solution d'hydroxyde de sodium.

Compléter à 50 ml avec de l'eau.

Conserver au réfrigérateur.

6.2.11.2 SOLUTION D'ONPG

Composition

orthonitrophényl β -D-galactopyranoside (ONPG)	80 mg
eau	15 ml

Préparation

Dissoudre l'ONPG dans l'eau à 50°C .

Refroidir la solution.

6.2.11.3 RÉACTIF COMPLET

Composition

solution tampon (6.2.11.1)	5 ml
solution d'ONPG (6.2.11.2)	15 ml

Préparation

Ajouter la solution tampon à la solution d'ONPG.

Conserver le réactif complet à 4°C un mois au maximum.

6.2.12 Réactif de Voges-Proskauer (méthode rapide de Barry et Feeny)

6.2.12.1 MILIEU VP

Composition

peptone	7,0 g
glucose	5,0 g
phosphate dipotassique (K_2HPO_4)	5,0 g
eau	1 000 ml

STANDARD PREVIEW
 (standards.iteh.ai)
 ISO 3565:1975
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2152668-4c18-466c-80b1-27f64496b1eb/iso-3565-1975>

b.d.c.

pour la réaction

Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau.

Ajuster le pH à 6,9 et filtrer.

Stériliser le milieu pendant 20 min à 115 °C.

6.2.12.2 SOLUTION DE CRÉATINE

Composition

créatine monohydratée	0,5 g
eau	100 ml

Préparation

Dissoudre la créatine monohydratée dans l'eau.

6.2.12.3 RÉACTIF α-NAPHTOL

Composition

α-naphtol	6 g
éthanol 96 % (V/V)	100 ml

Préparation

Dissoudre l'α-naphtol dans l'éthanol.

6.2.12.4 RÉACTIF HYDROXYDE DE POTASSIUM

Composition

hydroxyde de potassium	40 g
eau	100 ml

Préparation

Dissoudre l'hydroxyde de potassium dans l'eau.

6.2.13 Réactifs pour la recherche de l'indole

6.2.13.1 MILIEU TRYPTONE-TRYPTOPHANE (de Ljutov)

Composition

tryptone	10 g
chlorure de sodium	5 g
DL-tryptophane	1 g
eau	1 000 ml

Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau à 100 °C et filtrer. Ajuster le pH à 7,5.

6.2.13.2 RÉACTIF DE KOVACS

Composition

p-diméthylaminobenzaldéhyde	5 g
acide chlorhydrique, ρ 1,18 à 1,19 g/ml	25 ml
alcool amylique	75 ml

Préparation

Mélanger les composants.

6.3 Sérums

On peut trouver dans le commerce plusieurs sérums anti-salmonellæ, c'est-à-dire des anti-sérums contenant un ou plusieurs groupes «O» (dénommés anti-sérums «O» monovalents ou polyvalents), des anti-sérums Vi et des anti-sérums contenant un ou plusieurs groupes «H» (dénommés anti-sérums «H» monovalents ou polyvalents). Pour chaque sérum, suivre les instructions données par le fabricant du sérum.

7 APPAREILLAGE ET VERRERIE

7.1 Appareillage

7.1.1 Hachoir mécanique à viande, ^{taille de} laboratoire, stérilisé, muni d'une plaque perforée de trous de 4 mm de diamètre maximal. ^{dont les} ont un diamètre ne dépassant pas 4 mm.

7.1.2 Homogénéisateur mécanique opérant à 8 000 ~~tr/min~~ /min minimum et 45 000 ~~tr/min~~ /min maximum, avec bols en verre ou en métal de capacité appropriée, résistant aux conditions de stérilisation.

7.1.3 Appareillage pour la stérilisation de la verrerie, des bols de l'homogénéisateur, du matériel de filtration (par exemple/tampons d'amiante, membrane et bougie filtrantes de porosité convenable), des milieux de culture, etc.

7.1.4 Encinte de séchage, étuve ou incubateur pour sécher la surface des plaques de gélose, de préférence à 50 ± 5 °C.

7.1.5 Incubateur, permettant de maintenir les milieux ensemencés, les boîtes et les tubes, à 37 ± 1 °C.

7.1.6 Incubateur ou bain d'eau permettant de maintenir les milieux liquides inoculés à 42-43 °C.

7.1.7 Bains d'eau permettant de réchauffer ou de refroidir les solutions et les milieux aux températures appropriées.

7.2 Verrerie

~~7.2.1~~ La verrerie doit pouvoir résister à des stérilisations répétées.

~~7.2.1~~ **Tubes et flacons de culture** pour la stérilisation et la conservation des milieux de culture, et **tubes de culture** de 8 mm de diamètre et 160 mm de longueur, pour le milieu de décarboxylation à la lysine (6.2.10).

~~7.2.1~~ **Éprouvettes** de 100 ml, graduées en 10 ml, pour la préparation des milieux complets.

~~7.2.4~~ **Pipettes graduées**, de 10 ^{de} (ml) et 1 ml, graduées respectivement en 1 et 0,1 ml.

4/ 4/ 7.2.5 Boîtes de Pétri

7.2.5.1 BOÎTES DE GRANDES DIMENSIONS

Boîte

diamètre extérieur	140 ± 2 mm
hauteur extérieure	30 ± 2 mm
épaisseur du verre	1,5 ± 0,5 mm

Le bord doit être rodé dans un plan parallèle à la base.

Le fond de la boîte doit être plat et parallèle à la base.

Couvercle

diamètre extérieur	150 ± 2 mm
hauteur extérieure	15 ± 2 mm
épaisseur du verre	1,5 ± 0,5 mm

4/ 7.2.5.2 BOÎTES DE PETITES DIMENSIONS

Boîte

diamètre intérieur	90 ± 2 mm
hauteur extérieure	18 mm minimum

Le bord doit être rodé dans un plan parallèle à la base.

Le fond de la boîte doit être plat et parallèle à la base.

Couvercle

diamètre extérieur	102 mm maximum
--------------------	----------------

4/ 4/ 4/ 7.2.5.3 Des boîtes de Pétri en matière plastique peuvent aussi être utilisées, même si leurs dimensions sont légèrement différentes de celles des boîtes en verre décrites en 7.2.5.1 et 7.2.5.2.

7.3 Stérilisation de la verrerie, etc.

stériliser la verrerie, etc. ~~par~~ l'une des méthodes suivantes :

- stérilisation humide à 121 °C au minimum, durant 20 min au moins;
- stérilisation sèche à 170 °C au minimum, durant 1 h au moins.

8 ÉCHANTILLONNAGE

Opérer à partir d'un échantillon représentatif d'au moins 200 g. Voir ISO 3100.

L'échantillon représentatif peut être conservé dans le laboratoire à H température de 0 à 5 °C, mais pas plus de 24 h.

9 MODE OPÉRATOIRE

9.1 ~~Pré-traitement~~ ^{Traitement préalable} de l'échantillon

Hachoir mécanique (7.1.1). Procéder dès que possible à l'examen de

l'échantillon prétraité; il peut être conservé, si nécessaire, à une température comprise entre 0 et 5 °C, mais pas plus de 1 h.

9.2 Prise d'essai

Peser 25 g de viande hachée (ou de produit à base de viande, haché) (9.1) dans un bol stérile de l'homogénéisateur (7.1.2).

9.3 Macération

Ajouter dans le bol 225 ml de l'eau peptonée tamponnée (6.2.1). ^{durant}

Compte tenu de la vitesse de l'homogénéisateur, homogénéiser pendant un temps correspondant à un nombre total de tours compris entre 15 000 et 20 000. Toutefois, même avec l'homogénéisateur le plus lent, ce temps ne doit pas dépasser 2,5 min.

NOTE — La présence ou l'absence de *salmonellæ* dans de plus petites quantités de viande (par exemple 1,0 g, 0,1 g) peut être déterminée en transférant la quantité appropriée (par exemple 10 ml ou 1 ml) de la dilution dans 100 ml de l'eau peptonée tamponnée (6.2.1) et en opérant comme décrit; exprimer les résultats (voir chapitre 10) par rapport à la quantité correspondante de viande examinée.

9.4 Pré-enrichissement

9.4.1 Transvaser stérilement le contenu du bol dans un flacon stérile de 500 ml.

9.4.2 Incuber à 37 ± 1 °C durant 16 h au moins et 20 h au plus.

9.5 Enrichissement

9.5.1 Après cette incubation, ajouter 10 ml du contenu du flacon à 100 ml du milieu au tétrathionate (6.2.2), et 10 à 100 ml du milieu au sélénite (6.2.3).

9.5.2 Incuber à 42-43 °C durant 2 jours le milieu au tétrathionate inoculé et à 37 ± 1 °C durant 2 jours le milieu au sélénite inoculé.

9.6 Isolement

9.6.1 Au bout de 18 à 24 heures ^{d'incubation,} inoculer à partir de chacun des flacons (9.5.2) avec une anse de 2,5 à 3 mm de diamètre, la surface des plaques de gélose au vert brillant et au rouge de phénol (6.2.4) et, si nécessaire, inoculer de la même façon la surface d'un autre milieu solide, préféré par le laboratoire comme milieu sélectif des *salmonellæ*, par exemple gélose au sulfite de bismuth, gélose S.S., gélose au citrate et au désoxycholate, etc., de façon à permettre le développement de colonies bien isolées. (Si de grandes boîtes de Pétri ne sont pas disponibles, deux petites boîtes de Pétri peuvent être inocuées, l'une après l'autre, en utilisant la même anse.)

9.6.2 Retourner les boîtes et les placer dans un incubateur à 37 ± 1 °C.