NORME INTERNATIONALE

ISO 10272-1

Deuxième édition
2017-06

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp. —

Partie 1: Méthode de recherche

Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of Campylobacter *spp.* —

Part 1: Detection method

Numéro de référence
ISO 10272-1:2017(F)

© ISO 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**
Introduction ..... **vi**
1 Domaine d'application **1**
2 Références normatives **1**
3 Termes et définitions **1**
4 Principe **2**
4.1 Généralités 2
4.2 Enrichissement en milieu sélectif liquide 2
4.2.1 Mode opératoire de recherche A 2
4.2.2 Mode opératoire de recherche B 2
4.2.3 Mode opératoire de recherche C 2
4.3 Isolement sur milieu sélectif solide 3
4.3.1 Mode opératoire de recherche A 3
4.3.2 Mode opératoire de recherche B 3
4.3.3 Mode opératoire de recherche C 3
4.3.4 Modes opératoires de recherche A, B et C 3
4.4 Confirmation 3
5 Milieux de culture et réactifs **3**
6 Matériel et consommables **3**
7 Échantillonnage **4**
8 Préparation de l'échantillon pour essai **4**
9 Mode opératoire **4**
9.1 Généralités 4
9.2 Prise d'essai et suspension mère 5
9.2.1 Généralités 5
9.2.2 Mode opératoire de recherche A 5
9.2.3 Mode opératoire de recherche B 5
9.2.4 Mode opératoire de recherche C 5
9.3 Enrichissement 6
9.3.1 Mode opératoire de recherche A 6
9.3.2 Mode opératoire de recherche B 6
9.4 Isolement 6
9.4.1 Mode opératoire de recherche A 6
9.4.2 Mode opératoire de recherche B 6
9.4.3 Modes opératoires de recherche A, B et C 6
9.5 Confirmation de *Campylobacter* 6
9.5.1 Généralités 6
9.5.2 Sélection des colonies à confirmer 7
9.5.3 Examen de la morphologie et de la mobilité 7
9.5.4 Étude de la croissance aérobie à 25 °C 7
9.5.5 Recherche de l'activité de l'oxydase 7
9.5.6 Interprétation 7
9.6 Identification de l'espèce de *Campylobacter* (facultative) 8
9.6.1 Généralités 8
9.6.2 Recherche de l'activité de la catalase 8
9.6.3 Recherche de l'hydrolyse de l'hippurate 8
9.6.4 Recherche de l'hydrolyse de l'acétate d'indoxyle 8
9.6.5 Interprétation 9
10 Expression des résultats **9**
11 Caractéristiques de performance de la méthode **9**

© ISO 2017 – Tous droits réservés

11.1 Étude interlaboratoires 9
11.2 Sensibilité 9
11.3 Spécificité 9
11.4 LOD_{50} 9
12 Rapport d'essai **10**
Annexe A (normative) **Représentation schématique des modes opératoires** **11**
Annexe B (normative) **Milieux de culture et réactifs** **12**
Annexe C (informative) **Études de validation des méthodes et caractéristiques de performance** **21**
Bibliographie **24**

 © ISO 2017 – Tous droits réservés

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

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 10272-1:2006), qui a fait l'objet d'une révision technique. Les modifications suivantes ont été apportées:

— ajout des échantillons provenant de l'étape de production primaire au domaine d'application;

— extension de la méthode de recherche afin d'inclure l'option consistant à utiliser un deuxième bouillon d'enrichissement (bouillon de Preston), principalement pour résoudre les problèmes de résistance de la flore annexe aux ß-lactamines de troisième génération (comme la cefopérazone dans le bouillon de Bolton);

— extension de la méthode de recherche afin d'inclure l'ensemencement direct sur mCCDA;

— suppression de la note relative à l'utilisation de récipients fermés avec espace libre réduit comme alternative à l'incubation en atmosphère microaérophile;

— remplacement des essais de confirmation de l'étude de la croissance microaérophile à 25 °C et de la croissance aérobie à 41,5 °C par l'étude de la croissance aérobie à 25 °C;

— ajout à l'Annexe B d'essais de performance relatifs à l'assurance qualité des milieux de culture;

— ajout des caractéristiques de performance à l'Annexe C.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 10272 est disponible sur le site Internet de l'ISO.

© ISO 2017 – Tous droits réservés

Introduction

Les principaux changements énumérés dans l'avant-propos qui ont été apportés au présent document par rapport à l'ISO 10272-1:2006 sont considérés comme mineurs (voir l'ISO 17468).

En raison de la grande diversité des produits alimentaires, il se peut que la présente méthode horizontale ne convienne pas exactement, dans tous ses détails, à certains d'entre eux et que, pour certains autres, il puisse être nécessaire d'employer d'autres méthodes. Néanmoins, il est à espérer que tous les efforts seront entrepris dans tous les cas afin d'appliquer, dans la mesure du possible, la présente méthode horizontale et qu'il n'y aura d'écarts par rapport à celle-ci qu'en cas d'absolue nécessité et pour des raisons techniques.

Lors du prochain réexamen périodique du présent document, il sera tenu compte de toutes les évolutions intervenues depuis sa publication et, notamment, dans quelle mesure cette méthode horizontale aura été suivie ainsi que les raisons des dérogations dans le cas de produits particuliers. L'harmonisation des méthodes d'essai ne peut être instantanée et, pour certains groupes de produits, des Normes internationales et/ou nationales ne concordant pas avec la présente méthode horizontale existent peut-être déjà. Lorsque de telles normes viendront en révision, il serait souhaitable de les aligner avec les spécifications du présent document et de ne conserver que les seules divergences justifiées indispensables pour des raisons techniques.

© ISO 2017 – Tous droits réservés

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp. —

Partie 1: Méthode de recherche

AVERTISSEMENT — Afin de préserver la santé du personnel de laboratoire, il est essentiel que les essais de recherche de *Campylobacter* ne soient effectués que dans des laboratoires correctement équipés, sous la surveillance d'un microbiologiste expérimenté, et qu'un grand soin soit apporté à l'élimination de tous les matériaux incubés. Il convient que les personnes qui utilisent le présent document connaissent les pratiques classiques de laboratoire. Le présent document n'a pas pour but de traiter tous les aspects de la sécurité (s'il y en a) qui sont liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques d'hygiène et de sécurité appropriées.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode horizontale de recherche par enrichissement ou ensemencement direct de *Campylobacter* spp. Il s'applique:

— aux produits destinés à la consommation humaine;

— aux produits destinés à l'alimentation des animaux;

— aux échantillons environnementaux prélevés dans les secteurs de la production et de la manutention des aliments; et

— aux échantillons au stade de la production primaire tels que les matières fécales des animaux, la poussière et les prélèvements de surface.

2 Références normatives

Les documents suivants cités dans le texte 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 6887 (toutes les parties), *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*

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:

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse http://www.electropedia.org/;

© ISO 2017 – Tous droits réservés

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

3.1
Campylobacter
microorganismes formant des colonies caractéristiques sur des milieux sélectifs solides lorsqu'ils sont incubés en atmosphère microaérophile à 41,5 °C et possédant la mobilité et la morphologie caractéristiques, ainsi que les propriétés biochimiques et de croissance décrites lorsque les essais sont réalisés conformément au présent document

Note 1 à l'article: Le présent document vise les espèces *Campylobacter* thermotolérantes pertinentes pour la santé humaine. Les espèces thermotolérantes le plus souvent rencontrées et les plus pertinentes pour la santé humaine sont *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*. D'autres espèces ont toutefois été décrites (*Campylobacter lari*, *Campylobacter upsaliensis*, et autres).

3.2
recherche des *Campylobacter*
détection ou non-détection de *Campylobacter* (3.1) dans une quantité déterminée de produit, lorsque l'essai est réalisé conformément au présent document

4 Principe

4.1 Généralités

La recherche de *Campylobacter* exige trois étapes successives telles que spécifiées à l'Annexe A.

En fonction du type d'échantillon et de la finalité de l'essai, trois modes opératoires de recherche peuvent être utilisés:

— **Mode opératoire de recherche A**: recherche de *Campylobacter* par enrichissement, dans des échantillons contenant de faibles nombres de *Campylobacter*, peu de flore annexe et/ou des formes stressées de *Campylobacter*;

— **Mode opératoire de recherche B**: recherche de *Campylobacter* par enrichissement, dans des échantillons contenant de faibles nombres de *Campylobacter* et beaucoup de flore annexe;

— **Mode opératoire de recherche C**: recherche de *Campylobacter* par ensemencement direct, dans des échantillons contenant de grands nombres de *Campylobacter*.

4.2 Enrichissement en milieu sélectif liquide

4.2.1 Mode opératoire de recherche A

Ajout de la prise d'essai au bouillon d'enrichissement de Bolton.

Incubation en atmosphère microaérophile à 37 °C pendant 4 h à 6 h, puis à 41,5 °C pendant 44 h.

4.2.2 Mode opératoire de recherche B

Ajout de la prise d'essai au bouillon d'enrichissement de Preston.

Incubation en atmosphère microaérophile à 41,5 °C pendant 24 h.

4.2.3 Mode opératoire de recherche C

La technique d'enrichissement n'est pas utilisée.

© ISO 2017 – Tous droits réservés