NORME INTERNATIONALE

ISO 10273

Troisième édition
2017-03

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour la recherche de *Yersinia enterocolitica* pathogènes

Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection of pathogenic Yersinia enterocolitica

Numéro de référence
ISO 10273:2017(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 ..... **vii**
1 Domaine d'application **1**
2 Références normatives **1**
3 Termes et définitions **1**
4 Abréviations **2**
5 Principe **2**
5.1 Généralités 2
5.2 Ensemencement direct à partir du milieu liquide d'enrichissement 2
5.3 Enrichissement dans le milieu liquide d'enrichissement et le milieu liquide sélectif d'enrichissement 2
5.4 Isolement après enrichissement et identification 3
5.5 Confirmation 3
6 Milieux de culture et réactifs **3**
7 Matériel et consommables **3**
8 Échantillonnage **4**
9 Préparation de l'échantillon pour essai **4**
10 Mode opératoire (voir Annexe A) **4**
10.1 Prise d'essai et suspension mère 4
10.2 Ensemencement direct sur gélose sélective 5
10.3 Enrichissement 5
10.4 Isolement et incubation des boîtes 5
10.4.1 Isolement à partir du PSB et de l'ITC par traitement au KOH sur gélose CIN 5
10.4.2 Isolement à partir du PSB et de l'ITC par traitement au KOH sur gélose chromogène (facultatif) 5
10.5 Identification des colonies caractéristiques 5
10.6 Confirmation 6
10.6.1 Généralités 6
10.6.2 Sélection des colonies en vue de la confirmation 6
10.6.3 Détermination des espèces de ***Yersinia*** pathogènes 7
10.6.4 Confirmation des ***Y. enterocolitica*** pathogènes 9
10.6.5 Interprétation des essais de confirmation de ***Y. enterocolitica*** 10
10.6.6 Interprétation des essais de confirmation de ***Y. enterocolitica*** pathogènes 11
10.7 Biotypage de ***Y. enterocolitica*** (facultatif) 11
10.7.1 Généralités 11
10.7.2 Fermentation du xylose 11
10.7.3 Essai tween-estérase 11
10.7.4 Fermentation de la salicine (facultatif) et du tréhalose 12
10.7.5 Formation d'indole 12
10.7.6 Interprétation des essais de biotypage 12
11 Expression des résultats **13**
12 Caractéristiques de performance de la méthode **13**
12.1 Étude interlaboratoires 13
12.2 Sensibilité 13
12.3 Spécificité 13
12.4 LOD_{50} 13
13 Rapport d'essai **13**
14 Assurance de la qualité **14**

© ISO 2017 – Tous droits réservés

Annexe A (normative) **Schémas des modes opératoires** **15**
Annexe B (normative) **Composition et préparation des milieux de culture et des réactifs** **17**
Annexe C (informative) **Études de validation de méthode et caractéristiques de performance** **32**
Annexe D (informative) **Mode opératoire pour l'enrichissement par le froid** **35**
Bibliographie **40**

 © 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'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

Le présent document a été élaboré(e) 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 troisième édition annule et remplace la deuxième édition (ISO 10273:2003), qui a fait l'objet d'une révision technique. Les principales modifications apportées à cette troisième édition sont:

— pour la confirmation des *Y. enterocolitica* pathogènes, des essais liés à la pathogénicité ont été ajoutés ou spécifiés et mis en exergue. En conséquence, l'adjectif «présumé» a été supprimé du titre (*Y. enterocolitica* pathogènes) car la norme contient des essais obligatoires liés à la pathogénicité et permet la séparation des *Y. enterocolitica* pathogènes et non pathogènes;

— l'ensemencement direct sur gélose à la cefsulodine, à l'Irgasan™[1)] et à la novobiocine (CIN) a été ajouté;

— le temps d'incubation a été modifié pour le bouillon d'enrichissement à la peptone, au sorbitol et aux sels biliaires (PSB) et la gélose CIN;

— l'ensemencement et le temps d'incubation pour le bouillon d'enrichissement à l'Irgasan™, à la ticarcilline et au chlorate de potassium (ITC) ont été modifiés et spécifiés;

— la gélose Salmonella/Shigella avec désoxycholate de sodium et chlorure de calcium (SSDC) a été remplacée par la gélose CIN et un milieu chromogène facultatif;

1) L'Irgasan™ est un exemple de produit adapté disponible dans le commerce. Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs du présent document et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.

© ISO 2017 – Tous droits réservés

— l'ensemencement de la gélose CIN sans traitement préalable à l'hydroxyde de potassium (KOH) du bouillon d'enrichissement a été changé en un mode opératoire facultatif (parallèlement au traitement au KOH obligatoire);

— la préparation (durée de conservation) des solutions de KOH et de sulfate de fer(II) ammoniacal a été spécifiée;

— les colonies suspectes issues de la culture primaire sont ensemencées en stries (purifiées) sur gélose CIN et (facultatif) sur gélose chromogène afin de faciliter une meilleure sélection des colonies caractéristiques ayant besoin d'une confirmation. L'emploi d'un stéréomicroscope dans l'identification des colonies caractéristiques est mis en avant;

— tous les essais de confirmation biochimique, sauf l'essai de recherche de la pyrazinamidase, peuvent être remplacés par une recherche par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel du gène *ail* conformément à l'ISO/TS 18867;

— cinq essais de confirmation (indole, tréhalose, xylose, citrate, tween-estérase) sont devenus facultatifs. L'essai de recherche de la fermentation de la salicine a été ajouté en tant qu'essai facultatif (biotypage). L'essai de recherche de l'exigence en calcium à 37 °C a été remplacé par un essai sur rouge Congo et oxalate de magnésium (CR-MOX). Trois essais (oxydase, gélose de Kligler et décarboxylation de l'ornithine) ont été supprimés;

— le mode opératoire d'enrichissement par le froid de *Y. enterocolitica* a été ajouté à l'Annexe D;

— les caractéristiques de performance ont été ajoutées à l'Annexe C.

— les essais de performance pour l'assurance qualité des milieux de culture ont été ajoutés à l'Annexe B et l'Annexe D.

© ISO 2017 – Tous droits réservés

Introduction

Le présent document spécifie une méthode horizontale pour la recherche des *Yersinia enterocolitica* associées aux maladies chez l'homme. En raison de la grande diversité des produits alimentaires, il est possible que la présente méthode horizontale ne soit pas applicable dans tous ses détails à certains d'entre eux et que, pour certains autres, il soit nécessaire d'employer d'autres méthodes. Néanmoins, il convient que tous les efforts soient faits pour appliquer cette méthode horizontale chaque fois que possible et il est à espérer qu'il n'y aura d'écarts par rapport à celle-ci qu'en cas d'absolue nécessité et pour des raisons techniques.

Les principales modifications énumérées en préambule et introduites dans le présent document par rapport à l'ISO 10273:2003, sont considérées comme des modifications majeures (voir l'ISO 17468).

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 de toutes les méthodes d'essai ne peut être réalisée de façon immédiate; de ce fait, il peut déjà exister des Normes internationales et/ou nationales pour certains groupes de produits, qui ne concordent pas avec la présente méthode horizontale. Lorsque de telles normes viendront en révision, il serait souhaitable de les aligner avec le 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 de *Yersinia enterocolitica* pathogènes

AVERTISSEMENT — Afin de préserver la santé du personnel de laboratoire, il est essentiel que les essais de recherche de *Yersinia enterocolitica* pathogènes ne soient réalisés que dans des laboratoires équipés à cet effet et sous la surveillance d'un microbiologiste expérimenté, et qu'un grand soin soit pris pour se débarrasser de tout le matériel incubé. Il convient que l'utilisateur du présent document maîtrise les pratiques courantes de laboratoire. Le présent document n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui peuvent être liés à son utilisation. Il est de la responsabilité de l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées de sécurité, de protection de la santé et de garantir la conformité vis-à-vis des réglementations nationales en vigueur.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode horizontale pour la recherche des *Y. enterocolitica* associées aux maladies chez l'homme. Ce document est applicable

— aux produits destinés à l'alimentation humaine et animale, et

— aux échantillons d'environnement pour la production et la distribution des aliments.

2 Références normatives

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à l'application 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 11133:2014, *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 Online browsing platform: disponible à l'adresse http://www.iso.org/obp.

3.1
***Yersinia enterocolitica* pathogènes**
bactéries psychrotrophes formant des colonies caractéristiques sur des milieux solides sélectifs, possédant des propriétés biochimiques et moléculaires répondant aux critères de pathogénicité décrits lorsque des essais de confirmation sont réalisés conformément au présent document

© ISO 2017 – Tous droits réservés