NORME INTERNATIONALE

ISO 16649-3

Première édition
2015-05-15

Version corrigée
2016-12-15

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* bêta-glucuronidase positive —

Partie 3: Recherche et technique du nombre le plus probable utilisant le bromo-5-chloro-4-indolyl-3 ß-D-glucuronate

Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli —

Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-ß-D-glucuronide

Numéro de référence
ISO 16649-3:2015(F)

© ISO 2015



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2015, 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 ..... **iv**
Introduction ..... **vi**
1 Domaine d'application **1**
2 Références normatives **1**
3 Termes et définitions **2**
4 Principe **2**
4.1 Méthode de recherche 2
4.2 Méthode de dénombrement 3
4.2.1 Ensemencement de trois ou cinq tubes de milieu sélectif liquide d'enrichissement double concentration [5.3.1.1 a)] avec un volume égal de l'échantillon pour essai si le produit à examiner est liquide, ou avec un volume égal de suspension mère dans le cas d'autres produits. 3
5 Diluants et milieux de culture **3**
5.1 Généralités 3
5.2 Diluants 3
5.3 Milieux de culture 3
5.3.1 Milieu au glutamate modifié (milieu d'enrichissement sélectif) 4
5.3.2 Gélose tryptone-bile-glucuronate (deuxième milieu sélectif) 5
5.3.3 Essais de performance pour l'assurance qualité des milieux de culture 5
6 Appareillage et verrerie **6**
7 Échantillonnage **7**
8 Préparation de l'échantillon pour essai **7**
9 Mode opératoire **7**
9.1 Méthode de recherche 7
9.1.1 Prise d'essai, suspension mère et dilutions 7
9.1.2 Incubation du milieu d'enrichissement sélectif 7
9.1.3 Mise en subculture 7
9.1.4 Incubation secondaire 7
9.1.5 Examen des boîtes 7
9.1.6 Interprétation 7
9.2 Méthode de dénombrement 8
9.2.1 Prise d'essai, suspension mère et dilutions 8
9.2.2 Ensemencement du milieu d'enrichissement sélectif 8
9.2.3 Incubation 8
9.2.4 Mise en subculture 8
9.2.5 Deuxième incubation 8
9.2.6 Examen des boîtes 9
9.2.7 Interprétation 9
10 Expression des résultats **9**
10.1 Méthode de recherche 9
10.2 Méthode de dénombrement 9
11 Fidélité **9**
12 Rapport d'essai **9**
Bibliographie **10**

© ISO 2015 – 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 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: Avant-propos – Informations supplémentaires.

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

Cette première édition annule et remplace l'ISO/TS 16649-3:2005, qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 16649 comprend les parties suivantes, sous le titre général *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour le dénombrement des* Escherichia coli *β-glucuronidase positive:*

— *Partie 1: Technique de comptage des colonies à 44 °C au moyen de membranes et de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl ß-D-glucuronate*

— *Partie 2: Technique de comptage des colonies à 44 °C au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl ß-D-glucuronate*

— *Partie 3: Technique du nombre le plus probable utilisant le 5-bromo-4-chloro-3-indolyl ß-D-glucuronate*

La présente version corrigée de l'ISO 16649-3:2015 inclut les corrections suivantes:

— en 4.1.4, première ligne, «(22 ± 2) h» a été remplacé par «(21 ± 3) h»;

— en 4.2.5, première ligne, «(22 ± 2) h» a été remplacé par «(21 ± 3) h»;

— le Tableau 1 a été remplacé;

— le Tableau 2 a été remplacé;

— en 9.1.4, première ligne, «(22 ± 2) h» a été remplacé par «(21 ± 3) h»;

 © ISO 2015 – Tous droits réservés

— en 9.2.5, première ligne, «(22 ± 2) h» a été remplacé par «(21 ± 3) h»;

— en 9.2.5, deuxième ligne, «trois» a été remplacé «six».

© ISO 2015 – Tous droits réservés

Introduction

En raison de la grande diversité des aliments destinés à la consommation humaine ou animale, la présente méthode horizontale pourrait ne pas convenir en tous points pour certains produits. Dans ce cas, différentes méthodes spécifiques de ces produits pourraient être utilisées si cela s'avère absolument nécessaire pour des raisons techniques justifiées. Néanmoins, la méthode horizontale devra être appliquée aussi souvent que possible.

Lors de la prochaine révision de la présente partie de l'ISO 16649, il sera tenu compte de toutes les informations indiquant dans quelle mesure cette méthode horizontale a été suivie, ainsi que des 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 cette méthode horizontale. Lors de la prochaine révision de ces normes, il serait souhaitable de les aligner avec la présente partie de l'ISO 16649 et de ne conserver que les seules divergences justifiées indispensables pour des raisons techniques.

© ISO 2015 – Tous droits réservés

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* bêta-glucuronidase positive —

Partie 3:
Recherche et technique du nombre le plus probable utilisant le bromo-5-chloro-4-indolyl-3 ß-D-glucuronate

AVERTISSEMENT — La méthode décrite dans la présente partie de l'ISO 16649 ne permet pas de détecter les souches d'*Escherichia coli* qui ne se développent pas à 44 °C et, en particulier, celles qui sont β-glucuronidase négative, comme *Escherichia coli* O157 et quelques autres souches d'*E. coli* pathogènes.

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 16649 spécifie une méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli* β-glucuronidase positives par la technique de mise en culture en milieu liquide et par le calcul du nombre le plus probable (NPP) après incubation à (37 ± 1) °C, puis à (44 ± 1) °C. La présente partie de l'ISO 16649 est applicable:

— aux produits alimentaires destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation des animaux;

— aux échantillons environnementaux dans la zone de production et de manutention des produits alimentaires.

Cette méthode convient pour le dénombrement des cellules d'*Escherichia coli* qui ont pu souffrir de déshydratation, de congélation, d'exposition à un environnement salin (marin par exemple) ou avoir été endommagées par des désinfectants, par exemple des produits contenant du chlore.

L'applicabilité de la présente partie de l'ISO 16649 est limitée par le fait que la méthode est sujette à une importante variabilité. Il faut appliquer la méthode et interpréter les résultats à la lumière des informations fournies à l'Article 11.

Cette méthode n'a pas fait l'objet d'une évaluation complète pour toutes les matrices, par exemple pour le lait et les produits laitiers, pour lesquels il convient d'utiliser l'ISO 7251.

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 6887-1, *Microbiologie des aliments — 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 6887-2, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 2: Règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits à base de viande*.

© ISO 2015 – Tous droits réservés

ISO 6887-3, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 3: Règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche*.

ISO 6887-4, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 4: Règles spécifiques pour la préparation de produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche*.

ISO 6887-5, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 5: Règles spécifiques pour la préparation du lait et des produits laitiers*.

ISO 6887-6, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 6: Règles spécifiques pour la préparation des échantillons prélevés au stade de production primaire*

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

ISO 11133, *Microbiologie des aliments pour animaux et des eaux - 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.

3.1
***Escherichia coli* β-glucuronidase positive**
souches d'*E. coli* qui, à 44 °C, forment des colonies bleues ou bleu-vert caractéristiques sur le milieu tryptone-bile-glucuronate (TBX) dans les conditions spécifiées dans le mode opératoire

3.2
dénombrement des *Escherichia coli* β-glucuronidase positive
détermination du nombre le plus probable d'*E. coli* β-glucuronidase positive, par millilitre ou par gramme d'échantillon, lorsque l'essai est effectué selon le mode opératoire spécifié

4 Principe

4.1 Méthode de recherche

4.1.1 Ensemencement d'un milieu sélectif liquide d'enrichissement avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai si le produit à examiner est liquide, ou avec une quantité déterminée de suspension mère dans le cas d'autres produits.

4.1.2 Incubation du tube à (37 ± 1) °C pendant (24 ± 2) h. Examen du tube pour déceler une éventuelle production d'acide, signifiant une fermentation du lactose.

4.1.3 Si le tube présente une production d'acide, mettre en subculture sur gélose tryptone-bile-glucuronate (5.3.2).

4.1.4 Incubation de la gélose tryptone-bile-glucuronate (5.3.2) à (44 ± 1) °C pendant (21 ± 3) h. Examen de la gélose tryptone-bile-glucuronate (5.3.2) pour déceler la présence éventuelle de colonies bleues ou bleu-vert, signifiant la présence d'*E. coli* β-glucuronidase positive.

4.1.5 Le résultat est exprimé sous la forme *E. coli* détecté ou non détecté dans x g ou x ml de produit.

© ISO 2015 – Tous droits réservés