

ILNAS

Institut luxembourgeois de la normalisation
de l'accréditation, de la sécurité et qualité
des produits et services

ILNAS-EN 15787:2021

Aliments des animaux: Méthodes d'échantillonnage et d'analyse - Détection et dénombrement des souches de Lactobacillus spp. utilisées

Animal feeding stuffs: Methods of
sampling and analysis - Detection and
enumeration of Lactobacillus spp. used
as feed additive

Futtermittel: Probenahme- und
Untersuchungs-verfahren - Nachweis und
Zählung von Lactobacillus spp. als
Futtermittelzusatzstoff

11/2021



Avant-propos national

Cette Norme Européenne EN 15787:2021 a été adoptée comme Norme Luxembourgeoise ILNAS-EN 15787:2021.

Toute personne intéressée, membre d'une organisation basée au Luxembourg, peut participer gratuitement à l'élaboration de normes luxembourgeoises (ILNAS), européennes (CEN, CENELEC) et internationales (ISO, IEC) :

- Influencer et participer à la conception de normes
- Anticiper les développements futurs
- Participer aux réunions des comités techniques

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

CETTE PUBLICATION EST PROTÉGÉE PAR LE DROIT D'AUTEUR

Aucun contenu de la présente publication ne peut être reproduit ou utilisé sous quelque forme ou par quelque procédé que ce soit - électronique, mécanique, photocopie ou par d'autres moyens sans autorisation préalable !

NORME EUROPÉENNE

ILNAS-EN 15787:2021

EN 15787

EUROPÄISCHE NORM

EUROPEAN STANDARD

Novembre 2021

ICS 65.120

Remplace l' EN 15787:2009

Version Française

Aliments des animaux: Méthodes d'échantillonnage et d'analyse - Détection et dénombrement des souches de *Lactobacillus* spp. utilisées comme additifs pour l'alimentation animale

Futtermittel: Probenahme- und Untersuchungsverfahren - Nachweis und Zählung von *Lactobacillus* spp. als Futtermittelzusatzstoff

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis - Detection and enumeration of *Lactobacillus* spp. used as feed additive

La présente Norme européenne a été adoptée par le CEN le 2 août 2021.

Les membres du CEN sont tenus de se soumettre au Règlement Intérieur du CEN/CENELEC, qui définit les conditions dans lesquelles doit être attribué, sans modification, le statut de norme nationale à la Norme européenne. Les listes mises à jour et les références bibliographiques relatives à ces normes nationales peuvent être obtenues auprès du Centre de Gestion du CEN-CENELEC ou auprès des membres du CEN.

La présente Norme européenne existe en trois versions officielles (allemand, anglais, français). Une version dans une autre langue faite par traduction sous la responsabilité d'un membre du CEN dans sa langue nationale et notifiée au Centre de Gestion du CEN-CENELEC, a le même statut que les versions officielles.

Les membres du CEN sont les organismes nationaux de normalisation des pays suivants: Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Croatie, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République de Macédoine du Nord, République de Serbie, République Tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Slovaquie, Slovénie, Suède, Suisse et Turquie.



COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION
EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION

CEN-CENELEC Management Centre: Rue de la Science 23, B-1040 Bruxelles

Sommaire

Page

Avant-propos européen	3
Introduction	5
1 Domaine d'application	6
2 Références normatives	6
3 Termes et définitions.....	6
4 Principe.....	7
5 Diluants et milieux de culture	7
5.1 Diluants.....	7
5.2 Milieux de culture	8
6 Appareillage.....	10
7 Échantillonnage	11
8 Préparation de l'échantillon d'essai.....	12
9 Mode opératoire.....	12
9.1 Échantillons avec une microflore ajoutée à un seul ou plusieurs composants	12
9.2 Préparation des boîtes de gélose coulée pour la méthode d'ensemencement en surface	12
9.3 Préparation de la gélose MRS pour la méthode d'ensemencement en profondeur.....	12
9.4 Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.....	13
9.5 Ensemencement et incubation des boîtes.....	14
9.6 Dénombrement des colonies	15
9.7 Confirmation.....	15
10 Expression des résultats.....	16
11 Fidélité	17
11.1 Généralités.....	17
11.2 Étude interlaboratoires	17
11.3 Répétabilité.....	17
11.4 Reproductibilité	17
12 Rapport d'essai	17
Annexe A (informative) Notes relatives au mode opératoire	18
A.1 Généralités.....	18
A.2 Teneur critique en cuivre.....	18
Annexe B (informative) Résultats de l'étude interlaboratoires.....	20
B.1 Généralités.....	20
B.2 Résultats de l'étude interlaboratoires	20
Bibliographie	21

Avant-propos européen

Le présent document (EN 15787:2021) a été élaboré par le Comité technique CEN/TC 327 « Aliments des animaux — Méthodes d'échantillonnage et d'analyse », dont le secrétariat est tenu par NEN.

Cette Norme européenne devra recevoir le statut de norme nationale, soit par publication d'un texte identique, soit par entérinement, au plus tard en mai 2022, et toutes les normes nationales en contradiction devront être retirées au plus tard en mai 2022.

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. Le CEN ne saurait être tenu pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

Le présent document remplace l'EN 15787:2009.

Les principaux changements apportés à l'édition précédente sont les suivants :

- modification du titre ;
- extension du domaine d'application à toutes les souches de *Lactobacilli* utilisées comme additifs pour l'alimentation animale ;
- mise à jour des références normatives croisées ;
- ajout de Tween® 80 dans le tampon phosphate ;
- ajout de l'option permettant d'utiliser un tampon phosphate supplémenté avec du Tween® 80 pour la préparation de la suspension mère, ainsi que comme diluant pour les dilutions successives ;
- ajustement de la composition de la gélose MRS en fonction des formulations disponibles dans le commerce ;
- déplacement de la partie consacrée à l'utilisation de milieux LAMVAB de la partie normative du document à l'Annexe A informative ;
- remplacement du mélangeur de laboratoire d'une vitesse de rotation de 18 000 min⁻¹ à 22 000 min⁻¹ par des homogénéisateurs, par exemple conformément à l'EN ISO 7218, d'une vitesse de rotation de 10 000 min⁻¹ ;
- uniformisation de la durée d'homogénéisation pour la préparation des suspensions mères à cinq minutes quelle que soit la matrice ;
- préparation des suspensions mères généralement réalisée à l'aide de tPBS tempéré ;
- ajout de la méthode d'ensemencement en profondeur comme technique alternative de culture ;
- ajout d'un mode opératoire pour l'étude d'aliments pour animaux contenant une quantité élevée de cuivre dans l'Annexe A informative ;
- ajustement de la plage de nombres acceptés de colonies pour le comptage de « ≥ 30 à ≤ 350 » à « ≥ 10 à ≤ 200 » colonies par boîte.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information et toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve sur le site web du CEN.

Selon le Règlement Intérieur du CEN/CENELEC, les instituts de normalisation nationaux des pays suivants sont tenus de mettre cette Norme européenne en application : Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Croatie, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République de Macédoine du Nord, République tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Serbie, Slovaquie, Slovénie, Suède, Suisse et Turquie.

Introduction

La présente méthodologie a été mise au point en vue de dénombrer les lactobacilles utilisés comme additifs dans l'alimentation animale, afin de permettre à la Commission européenne de s'assurer du bon étiquetage des produits destinés aux aliments pour animaux. Elle a été élaborée dans un premier temps à partir des données recueillies lors du Projet UE SMT4-CT98-2235 « Methods for the official control of probiotics used as feed additives » [1]. La méthodologie spécifiée a été validée lors d'une étude interlaboratoires [2]. La méthode est validée dans le présent projet pour une seule souche de *Lactobacillus acidophilus* et une seule souche de *Lactobacillus rhamnosus*. Il peut être pris pour hypothèse que la méthode est également appropriée pour d'autres souches de *Lactobacillus* utilisées comme additifs dans l'alimentation animale.

Cette méthode n'est pas sélective des lactobacilles utilisés comme additifs pour l'alimentation animale, mais elle peut être utilisée afin de dénombrer les *Lactobacilli* spp. contenus dans les additifs, les prémélanges et les aliments composés pour animaux en prenant pour hypothèse que les lactobacilles ajoutés sont présents en nombre bien plus important que tout autre lactobacille.

Cette méthode n'est pas applicable à la détection de n'importe quelle souche de *Lactobacillus* spp. ubiquitaire ni aux autres bactéries lactiques dans les aliments qu'ils soient destinés aux animaux ou aux humains.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des règles générales pour le dénombrement des lactobacilles présents dans les aliments pour animaux (additifs, prémélanges et aliments composés, à l'exception des aliments minéraux) qui contiennent des lactobacilles comme seul micro-organisme constitutif ou en mélange avec d'autres micro-organismes. L'application de la méthode aux prémélanges et aux aliments composés pour animaux présentant une teneur critique en cuivre nécessite de mettre en œuvre un mode opératoire spécial (voir A.2). Le présent document ne s'applique pas aux aliments minéraux, qui se définissent comme des aliments complémentaires constitués principalement de minéraux et contenant au moins 40 % de cendre brute (Règlement (CE) n° 767/2009) [3].

Il existe différentes catégories d'échantillons d'aliments pour animaux :

- a) les additifs contenant environ 10^{10} UFC/g (UFC : unités formant colonie) ;
- b) les prémélanges contenant environ 10^{11} UFC/kg ;
- c) les aliments composés, farines ou granulés contenant environ 10^9 UFC/kg.

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).

EN ISO 6498, *Aliments des animaux — Lignes directrices pour la préparation des échantillons (ISO 6498)*.

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 <https://www.electropedia.org/>

3.1

lactobacilles

bactéries en forme de bâtonnets, catalase négatives, à Gram positif, en chaînes

Note 1 à l'article : Cette description est fondée sur les caractéristiques de ces micro-organismes utilisées dans le cadre du présent document.

Note 2 à l'article : Les lactobacilles forment des colonies correspondant à la description de ces espèces dans les milieux sélectifs spécifiés après incubation de 48 h à 72 h à une température de 37 °C dans des conditions anaérobies (voir 9.7).