
**Microbiologie des aliments — Méthode
horizontale pour le dénombrement
de *Clostridium perfringens* — Technique
par comptage des colonies**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for
enumeration of Clostridium perfringens — Colony-count technique*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 7937:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f0e4b2f-2aed-4b4e-83ae-f9a5edb45325/iso-7937-1997>



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 (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale 7937 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 7937:1985), dont elle constitue une révision technique.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 7937:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f0e4b2f-2acd-4b4e-83ae-f9a5edb45325/iso-7937-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f0e4b2f-2acd-4b4e-83ae-f9a5edb45325/iso-7937-1997>

© ISO 1997

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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 et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation

Case postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse

Internet central@iso.ch

X.400 c=ch; a=400net; p=iso; o=isocs; s=central

Imprimé en Suisse

Introduction

En raison de la grande diversité des produits alimentaires, il est possible que cette méthode horizontale ne convienne pas exactement, dans tous ses détails, pour certains produits pour lesquels il peut être nécessaire d'employer des méthodes différentes ou spécifiques à ces produits. Néanmoins, tous les efforts devront être faits pour appliquer cette méthode horizontale chaque fois qu'il sera possible et l'on n'aura recours à des dérogations que si cela est absolument nécessaire pour des raisons techniques justifiées.

Lorsque la présente Norme internationale sera réexaminée, il sera tenu compte de tous les renseignements disponibles à ce moment-là, à savoir dans quelle mesure cette méthode horizontale aura été suivie et les raisons pour lesquelles il aura été nécessaire d'y déroger dans le cas de produits particuliers.

L'harmonisation des méthodes d'essai ne peut être réalisée de façon immédiate et, pour certains groupes de produits, des Normes internationales et/ou des normes nationales qui ne concordent pas avec cette méthode horizontale, existent peut-être déjà. Lorsque de telles normes viendront en révision, il serait souhaitable de les aligner sur la présente Norme internationale, si bien que, finalement, les seules divergences restantes seront celles qui sont nécessaires pour des raisons techniques bien établies.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 7937:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f0e4b2f-2aed-4b4e-83ae-f9a5edb45325/iso-7937-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f0e4b2f-2aed-4b4e-83ae-f9a5edb45325/iso-7937-1997>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 7937:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f0e4b2f-2aed-4b4e-83ae-f9a5edb45325/iso-7937-1997>

Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens* — Technique par comptage des colonies

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens* revivifiables dans les produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale.

2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f0e4b2f-2aed-4b4e-83ae-f06e3e32555a/iso-7937-1997>

ISO 6887:1983, *Microbiologie — Directives générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique.*

ISO 7218:1996, *Microbiologie des aliments — Règles générales pour les examens microbiologiques.*

3 Définitions

Pour les besoins de la présente Norme internationale, les définitions suivantes s'appliquent.

3.1 *Clostridium perfringens*:

Bactéries qui forment des colonies caractéristiques (entourées d'un halo noir) dans le milieu sélectif spécifié et qui donnent des réactions de confirmation positives lorsque l'essai est effectué conformément à la méthode prescrite dans la présente Norme internationale.

NOTE — Pour des raisons pratiques, cette définition de *Clostridium perfringens* ne décrit pas exclusivement les souches de *C. perfringens*. En particulier, les essais de confirmation sont inadéquats pour distinguer *C. perfringens* des autres espèces de *Clostridium* proches, mais moins communément rencontrées, telles que *C. Paraperfringens* et *C. absonum*.

3.2 dénombrement de *C. perfringens*:

Détermination du nombre de bactéries *Clostridium perfringens* revivifiables et confirmées par millilitre ou par gramme d'échantillon lorsque l'essai est effectué conformément à la méthode prescrite dans la présente Norme internationale.

4 Principe

4.1 Ensemencement des boîtes de Petri avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai si le produit à examiner est liquide, ou avec une quantité déterminée de la suspension mère dans le cas d'autres produits.

Dans les mêmes conditions, ensemencement des dilutions décimales obtenues à partir de l'échantillon pour essai ou de la suspension mère dans le cas d'autres produits.

Mélange avec un milieu sélectif (technique d'ensemencement dans la masse) et addition d'une couche du même milieu par le dessus.

4.2 Incubation en anaérobiose des boîtes à 35 °C ou 37 °C pendant 20 h. La température doit faire l'objet d'un accord entre les parties concernées et doit être indiquée dans le rapport d'essai.

4.3 Dénombrement des colonies caractéristiques.

4.4 Confirmation du nombre de colonies caractéristiques et calcul du nombre de *C. perfringens* par millilitre ou par gramme d'échantillon.

5 Diluant, milieux de culture et réactifs

5.1 Généralités

Voir l'ISO 7218.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5.2 Diluant

Voir l'ISO 6887 et toute norme spécifique traitant du produit à examiner.

[ISO 7937:1997](#)

5.3 Gélose tryptose-sulfite à la cyclosérine (SC) exempte de jaune d'oeuf ¹⁾

[9a5edb45325/iso-7937-1997](#)

5.3.1 Milieu de base

5.3.1.1 Composition

| | |
|---|------------------------------|
| Tryptose ^{a)} | 15,0 g |
| Sojatone ^{a)} | 5,0 g |
| Extrait de levure | 5,0 g |
| Bisulfite disodique (Na ₂ S ₂ O ₅), anhydre | 1,0 g |
| Citrate de fer(III) ammoniacal ^{b)} | 1,0 g |
| Agar-agar | 9,0 g à 18,0 g ^{c)} |
| Eau | 1 000 ml |

a) Les dénominations "tryptose" et "sojatone" ne sont utilisées actuellement que par certains fabricants de milieux. Tout autre digestat pancréatique de caséine ou de soja fournissant des résultats comparables peut être utilisé.

b) Il convient que ce réactif contienne au moins 15 % (m/m) de fer.

c) Selon le pouvoir gélifiant de l'agar-agar.

1) SC était désigné à l'origine comme TSC exempt d'EY (HAUSCHILD et HILSHEIMER. *Appl. Microbiol.*, **27**, 1974, pp. 78-82.

5.3.1.2 Préparation

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

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,6 \pm 0,2$ à $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Répartir le milieu de base dans des flacons ou des fioles de capacité appropriée.

Stériliser pendant 15 min à $121 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.3.2 Solution de D-cyclosérine

5.3.2.1 Composition

| | |
|--|--------|
| D-cyclosérine a) | 4,0 g |
| Eau | 100 ml |
| a) Utiliser uniquement de la poudre blanche cristalline. | |

5.3.2.2 Préparation

Dissoudre la D-cyclosérine dans l'eau et stériliser la solution par filtration.

Conserver au réfrigérateur à $+3 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Ne pas utiliser la solution plus de quatre semaines après sa préparation.

5.3.3 Milieu complet

Immédiatement avant de commencer la méthode d'ensemencement dans la masse (voir 9.2), ajouter 1 ml de la solution de D-cyclosérine (5.3.2) pour chaque 100 ml de milieu de base stérile (5.3.1) fondu et refroidi à $47 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.4 Milieu thioglycolate liquide

5.4.1 Composition

| | |
|---|------------------|
| Digestat enzymatique de caséine | 15,0 g |
| L-cystéine | 0,5 g |
| D-glucose | 5,5 g |
| Extrait de levure | 5,0 g |
| Chlorure de sodium | 2,5 g |
| Thioglycolate de sodium (mercaptoacétate) | 0,5 g |
| Agar-agar | 0,5 g à 2,0 g a) |
| Résazurine | 0,001 g |
| Eau | 1 000 ml |
| a) Selon le pouvoir gélifiant de l'agar-agar. | |

5.4.2 Préparation

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

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,1 \pm 0,2$ à 25 °C .

Répartir le milieu dans des tubes par quantités de 10 ml et stériliser à 121 °C pendant 15 min.

Au moment de l'emploi, ce milieu doit être désaéré.

5.5 Milieu lactose sulfite (LS)

5.5.1 Milieu de base

5.5.1.1 Composition

| | |
|---------------------------------|----------|
| Digestat enzymatique de caséine | 5,0 g |
| Extrait de levure | 2,5 g |
| Chlorure de sodium | 2,5 g |
| Lactose | 10 g |
| Hydrochlorure de L-cystéine | 0,3 g |
| Eau | 1 000 ml |

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5.5.1.2 Préparation

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

[ISO 7937:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f0e4b2f-2aed-4b4e-83ac-f9a5edb45325/iso-7937-1997)

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,1 \pm 0,2$ à 25 °C .

Répartir le milieu par quantités de 8 ml dans des tubes à essai ou des flacons d'essai contenant des cloches de Durham inversées (6.7) et stériliser à 121 °C pendant 15 min.

Le milieu peut être conservé au plus quatre semaines à $+3\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

5.5.2 Solution de bisulfite disodique anhydre

5.5.2.1 Composition

| | |
|---|--------|
| Bisulfite disodique ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) anhydre | 1,2 g |
| Eau | 100 ml |

5.5.2.2 Préparation

Dissoudre le bisulfite disodique dans l'eau et stériliser la solution par filtration.

Utiliser la solution dans la journée.

5.5.3 Solution de citrate de fer(III) ammoniacal

5.5.3.1 Composition

| | |
|--------------------------------|--------|
| Citrate de fer(III) ammoniacal | 1 g |
| Eau | 100 ml |

5.5.3.2 Préparation

Dissoudre le citrate de fer(III) ammoniacal dans l'eau et stériliser la solution par filtration.

Utiliser la solution dans la journée.

5.5.4 Milieu complet

Si le milieu n'est pas utilisé le jour de sa préparation, désaérer le milieu juste avant la fin par chauffage et refroidir ensuite rapidement. Si le milieu est contenu dans des flacons à vis, desserrer les bouchons à vis avant chauffage et les resserrer avant refroidissement.

Ajouter ensuite 0,5 ml de la solution de bisulfite disodique (5.5.2) et 0,5 ml de la solution de citrate de fer(III) ammoniacal (5.5.3) à chaque 8 ml du milieu de base (5.5.1).

6 Appareillage et verrerie

Matériel courant de laboratoire de microbiologie (voir l'ISO 7218) et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Appareil pour la stérilisation en chaleur sèche (four) ou en chaleur humide (autoclave)

[ISO 7937:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f0e4b2f-2aed-4b4e-83ae-f9a5edb45325/iso-7937-1997)

Voir l'ISO 7218.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8f0e4b2f-2aed-4b4e-83ae-f9a5edb45325/iso-7937-1997>

6.2 Étuve, réglable à 35 °C ± 1 °C ou à 37 °C ± 1 °C selon la température convenue.

6.3 Jarres pour anaérobiose, ou tout autre appareillage approprié pour la culture en anaérobiose.

6.4 pH-mètre, ayant une précision de lecture de ± 0,01 unité pH à 25 °C, permettant de réaliser des mesures précises à 0,1 unité pH.

6.5 Anses bouclées, en platine iridié ou en nickel-chrome, d'environ 3 mm de diamètre et **fil à ensemercer** de même métal.

6.6 Appareil de filtration, pour la stérilisation des solutions.

6.7 Tubes à essais, flacons ou fioles, de capacité appropriée, dont des tubes à essais de 16 mm × 160 mm munis de cloches de Durham inversées, par exemple de 35 mm de longueur et de 7 mm de diamètre.

6.8 Pipettes graduées à écoulement total, de 1 ml et 10 ml de capacités nominales, graduées respectivement en 0,1 ml et en 0,5 ml.

6.9 Boîtes de Petri, en verre ou en plastique, de 90 mm à 100 mm de diamètre.

6.10 Bain d'eau ou dispositif similaire réglable à 47 °C ± 2 °C.

6.11 Bain d'eau ou dispositif similaire réglable à 46 °C ± 0,5 °C.