
**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
the enumeration of Clostridium perfringens — Colony-count technique*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 7937:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 7937:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004>

© ISO 2004

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	2
4 Principe	2
5 Diluant, milieux de culture et réactifs	2
6 Appareillage et verrerie	7
7 Échantillonnage	8
8 Préparation de l'échantillon pour essai	8
9 Mode opératoire	8
10 Expression des résultats	10
11 Rapport d'essai	12
Annexe A (informative) Résultats d'essai interlaboratoires	13
Bibliographie	17

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004>
 ITech STANDARD PREVIEW
 (standards.iteh.ai)

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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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.

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.

L'ISO 7937 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

Cette troisième édition annule et remplace la deuxième édition (ISO 7937:1997, EN 13401:1999), qui a fait l'objet d'une révision technique.

[ISO 7937:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004>

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 si cela est absolument nécessaire pour des raisons techniques justifiées. Néanmoins, il convient que tous les efforts soient faits pour appliquer cette méthode horizontale chaque fois que ce sera possible.

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 7937:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 7937:2004

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004>

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

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit une méthode horizontale pour le dénombrement des *Clostridium perfringens* revivifiants. La présente norme est applicable

- aux produits pour l'alimentation humaine et animale, et
- aux échantillons d'environnement pour la production et la distribution des aliments.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour 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 7937:2004

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 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 7218, *Microbiologie des aliments — Règles générales pour les examens microbiologiques*

ISO 8261, *Lait et produits laitiers — Lignes directrices générales pour la préparation des échantillons pour essai, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*

ISO TS 11133-1, *Microbiologie des aliments — Guide pour la préparation et la production des milieux de culture — Partie 1: Guide général pour l'assurance de la qualité pour la préparation des milieux de culture en laboratoire*

ISO TS 11133-2 *Microbiologie des aliments — Guide pour la préparation et la production des milieux de culture — Partie 2: Guide général pour les essais de performance des milieux de culture*

3 Termes et définitions

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

3.1
Clostridium perfringens
C. perfringens
bactéries qui forment des colonies caractéristiques (précipité noir, causé par la réduction du sulfite en sulfure qui colore les colonies en noir) dans le milieu sélectif spécifié et qui donnent des réactions de confirmation positives lorsque l'essai est effectué par l'une des deux méthodes spécifiées dans la présente Norme internationale

3.2
dénombrement de *C. perfringens*
détermination du nombre de bactéries *Clostridium perfringens* que l'on peut mettre en culture et confirmées par millilitre ou par gramme d'échantillon lorsque l'essai est effectué conformément à la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale

4 Principe

4.1 Des boîtes de Petri sontensemencées 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.

D'autres boîtes de Petri sontensemencées, dans les mêmes conditions, en utilisant des dilutions décimales obtenues à partir de l'échantillon pour essai ou de la suspension mère.

Un milieu sélectif est ajouté (technique d'ensemencement dans la masse) puis une couche du même milieu est ajoutée par le dessus.

4.2 Les boîtes sont incubées en anaérobiose à 37°C pendant 20 h ± 2 h.

4.3 Les colonies caractéristiques sont dénombrées.

4.4 La quantité de colonies caractéristiques est confirmée et le nombre de *C. perfringens* par millilitre ou par gramme d'échantillon est calculé.

5 Diluant, milieux de culture et réactifs

Voir l'ISO 7218, l'ISO/TS 11133-1 et l'ISO/TS 11133-2. Pour la préparation, la production et le contrôle des milieux de culture.

5.1 Diluant

Voir la partie pertinente de l'ISO 6887 ou l'ISO 8261.

5.2 Gélose tryptose-Sulfite à la cyclosérine (SC)

NOTE SC était désigné à l'origine comme «egg-yolk-free TSC» (TSC exempt de jaune d'œuf), (voir [1]).

5.2.1 Milieu de base

5.2.1.1 Composition

Digestat enzymatique de protéine	15,0 g
Digestat enzymatique de Soja	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 ^a	1,0 g
Agar	9,0 g à 18,0 g ^b
Eau	1 000 ml
^a Il convient que ce réactif contienne au moins 15 % (en fraction massique) de fer.	
^b Selon le pouvoir géifiant de l'agar.	

5.2.1.2 Préparation

5.2.1.2.1 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 °C. Répartir le milieu de base dans des flacons ou des fioles de capacité appropriée. Stériliser pendant 15 min à 121 °C. Conserver au réfrigérateur à $5 \text{ °C} \pm 3 \text{ °C}$. Éliminer le milieu inutilisé deux semaines après sa préparation.

5.2.1.2.2 Dans certains cas (voir 9.4.3.1), il est nécessaire de préparer des boîtes de milieu de base SC en vue de la confirmation utilisant le milieu nitrate motilité (5.5) et le milieu lactose gélatine (5.8). Pour ce faire, transférer des quantités d'environ 15 ml de milieu [refroidis à approximativement 44 °C à 47 °C à l'aide du bain d'eau (6.10)] dans des boîtes de Petri. Laisser solidifier. Sécher les boîtes juste avant leur utilisation (voir l'ISO 7218).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291de26b-e8e6-4d8c-b26e-6e4cb9f3c4bd/iso-7937-2004>

5.2.2 Solution de D-Cyclosérine

5.2.2.1 Composition

D-Cyclosérine ^a	4,0 g
Eau	100 ml
^a Utiliser uniquement de la poudre blanche cristalline.	

5.2.2.2 Préparation

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

Conserver au réfrigérateur à $3 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$.

Éliminer la solution inutilisée quatre semaines après sa préparation.

5.2.3 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 (5.2.2) pour chaque 100 ml de milieu de base stérile (5.2.1) fondu et refroidi entre 44 °C et 47 °C.

5.2.4 Essai de performance pour l'assurance qualité du milieu

Pour la définition de la sélectivité et de la productivité se référer à l'ISO/TS 11133-2. Pour vérifier les performances, se référer à l' ISO/TS 11133-2:2003, Tableau B.1 [voir TS(C)].

5.3 Milieu thioglycolate liquide

5.3.1 Composition

Digestat enzymatique de caséine	15,0 g
L-Cystine	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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5.3.2 Préparation

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

Avant l'emploi ce milieu doit être désaéré.

5.3.3 Essai de performance pour l'assurance qualité du milieu thioglycolate

Pour la définition de la sélectivité et de la productivité se référer à l'ISO/TS 11133-2. Pour vérifier les performances, se référer à l'ISO TS/11133-2:2003, Tableau B.4.

5.4 Milieu lactose sulfite (LS) (facultatif)

5.4.1 Milieu de base

5.4.1.1 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

5.4.1.2 Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau, en portant à ébullition (si nécessaire). Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de $7,1 \pm 0,2$ à $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

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

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

5.4.2 Solution de bisulfite disodique anhydre

5.4.2.1 Composition

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

5.4.2.2 Préparation

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

Utiliser la solution dans la journée.

5.4.3 Solution de citrate de fer(III) ammoniacal

5.4.3.1 Composition

Citrate de fer(III) ammoniacal	ISO 7937:2004	1 g
Eau		100 ml

5.4.3.2 Préparation

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

Utiliser la solution dans la journée.

5.4.4 Milieu complet

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

Ajouter ensuite 0,5 ml de la solution de bisulfite disodique (5.4.2) et 0,5 ml de la solution de citrate de fer(III) ammoniacal (5.4.3) à chaque 8 ml du milieu de base (5.4.1).

Utiliser le milieu complet le jour de sa préparation.