

NORME INTERNATIONALE

ISO 15213-2

Première édition
2023-11

Version corrigée
2024-03

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Clostridium* spp. —

Partie 2:

Dénombrement de *Clostridium perfringens* par la technique de comptage des colonies

Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Clostridium spp. —

Part 2: Enumeration of Clostridium perfringens by colony-count technique

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/211af75b-7d82-49f5-90a0-5d6db0d80f35/iso-15213-2-2023>



Numéro de référence
ISO 15213-2:2023(F)

© ISO 2023

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

ISO 15213-2:2023

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2f1af75b-7d82-49f5-90a0-5d6db0d80f35/iso-15213-2-2023>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2023

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	2
3 Termes et définitions	2
4 Principe	3
4.1 Généralités	3
4.2 Préparation des dilutions	3
4.3 Dénombrement	3
4.4 Confirmation	4
5 Milieux de culture et réactifs	4
6 Équipement et consommables	4
7 Échantillonnage	5
8 Préparation de l'échantillon pour essai	5
9 Mode opératoire	5
9.1 Généralités	5
9.2 Prise d'essai, suspension mère et dilutions	5
9.3 Traitement thermique pour la sélection des spores	6
9.4 Ensemencement et incubation	6
9.5 Dénombrement des colonies caractéristiques	7
9.6 Confirmation de <i>C. perfringens</i>	7
9.6.1 Sélection des colonies à confirmer	7
9.6.2 Essai à la phosphatase acide	8
9.6.3 Essai sur gélose SIM (mobilité indole sulfite)	8
9.6.4 Différenciation entre souches de <i>C. perfringens</i> pathogènes et non pathogènes pour l'Homme (facultatif)	8
9.6.5 Interprétation	8
10 Expression des résultats	8
11 Validation de la méthode	9
11.1 Étude interlaboratoires	9
11.2 Caractéristiques de performance	9
12 Rapport d'essai	10
13 Assurance qualité	10
Annexe A (normative) Logigramme du mode opératoire	11
Annexe B (normative) Milieux de culture et réactifs	13
Annexe C (informative) Études de validation de la méthode et caractéristiques de performance	19
Annexe D (informative) Différenciation moléculaire entre <i>C. perfringens</i> pathogènes et non pathogènes	22
Bibliographie	44

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'ISO attire l'attention sur le fait que la mise en application du présent document peut entraîner l'utilisation d'un ou de plusieurs brevets. L'ISO ne prend pas position quant à la preuve, à la validité et à l'applicabilité de tout droit de propriété revendiqué à cet égard. À la date de publication du présent document, l'ISO n'avait pas reçu notification qu'un ou plusieurs brevets pouvaient être nécessaires à sa mise en application. Toutefois, il y a lieu d'avertir les responsables de la mise en application du présent document que des informations plus récentes sont susceptibles de figurer dans la base de données de brevets, disponible à l'adresse www.iso.org/brevets. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de 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 www.iso.org/iso/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 463, *Microbiologie de la chaîne alimentaire*, du Comité européen de normalisation (CEN), conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Cette première édition de l'ISO 15213-2 annule et remplace l'ISO 7937:2004, qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications sont les suivantes:

- le Domaine d'application a été élargi aux échantillons prélevés au stade de la production primaire;
- le traitement thermique de 10 min à 80 °C est à présent facultatif, il est appliqué si la flore annexe est élevée ou pour le dénombrement uniquement des spores de *Clostridium (C.) perfringens* dans l'échantillon;
- le milieu sélectif précédemment appelé «gélose sulfite à la cyclosérine (SC)» est à présent appelé «gélose tryptose-sulfite à la cyclosérine (gélose TSC)» sans changement de formulation;
- les méthodes de confirmation décrites ont été modifiées conformément à l'ISO 14189;
- le logigramme à l'[Annexe A](#) normative qui donne une brève description du mode opératoire a été révisé;
- les critères pour les essais de performance du milieu de culture ont été ajoutés à l'[Annexe B](#);
- les caractéristiques de performance ont été ajoutées à l'[Annexe C](#) (informative);

- à l'[Annexe D](#) (informative), deux méthodes moléculaires ont été ajoutées pour une différenciation entre les *C. perfringens* pathogènes et les *C. perfringens* non pathogènes, et une méthode moléculaire est décrite pour la différenciation des souches de type A de *C. perfringens* portant un gène *cpe* codé sur le matériel chromosomique de celles portant un gène *cpe* codé sur les plasmides.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 15213 se trouve sur le site Web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

La présente version corrigée de l'ISO 15213-2:2023 inclut les corrections suivantes:

- [9.4.4](#) corrigé et aligné sur la version anglaise.

iTeh Standards (<https://standards.iteh.ai>) Document Preview

ISO 15213-2:2023

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2f1af75b-7d82-49f5-90a0-5d6db0d80f35/iso-15213-2-2023>

Introduction

Clostridium (C.) perfringens est une bactérie à coloration de Gram-positive, anaérobie, qui forme des spores. S'agissant d'une bactérie ubiquitaire, *C. perfringens* se retrouve principalement dans le sol, mais elle se retrouve également dans le tube digestif des humains et des animaux. La présence d'un nombre élevé de *C. perfringens* peut donc indiquer une préparation ou une manipulation inadéquate des produits alimentaires.

Un nombre élevé de *C. perfringens* dans les aliments prêts à consommer peut provoquer des maladies chez l'Homme, qui se traduisent essentiellement par une diarrhée. Les souches sont classées par type toxinique, selon leur capacité à produire des toxines dites «majeures» et «mineures». Les toxi-infections alimentaires sont causées par des isolats de *C. perfringens* qui produisent l'entérotoxine *C. perfringens* (CPE).

Un élément caractéristique est la thermorésistance des spores: elles ont la capacité de germer et de se multiplier dans les aliments prêts à consommer après le processus de cuisson. L'ingestion d'aliments contaminés est suivie d'une maladie gastro-intestinale lorsque les entérotoxines enzymo-résistantes de *C. perfringens* sont libérées pendant la phase de sporulation dans l'intestin grêle. Les souches sont classées par type.

Le présent document décrit la méthode horizontale pour le dénombrement de *C. perfringens* dans les aliments, les aliments pour animaux, les échantillons environnementaux et les échantillons prélevés au stade de la production primaire. La méthode de dénombrement des bactéries *Clostridium* spp. Sulfito-réductrices est décrite dans l'ISO 15213-1. La méthode de détection de *C. perfringens* est décrite dans l'ISO/TS 15213-3. Ces trois parties sont publiées dans le cadre d'une série de Normes internationales, car les méthodes sont étroitement liées les unes aux autres. Ces méthodes sont souvent utilisées conjointement dans un laboratoire et les milieux et leurs caractéristiques de performance peuvent être similaires.

Les principales modifications techniques énumérées dans l'Avant-propos et introduites dans le présent document par rapport à l'ISO 7937:2004 sont considérées comme des modifications significatives (voir l'ISO 17468).

Ces modifications ont un impact majeur sur les caractéristiques de performance de la méthode.

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Clostridium* spp. —

Partie 2:

Dénombrement de *Clostridium perfringens* par la technique de comptage des colonies

AVERTISSEMENT — Afin de préserver la santé du personnel de laboratoire, il est essentiel que les essais de dénombrement de *Clostridium perfringens* ne soient effectués que dans des laboratoires correctement équipés, sous la surveillance d'un microbiologiste expérimenté, et qu'un grand soin soit apporté à l'élimination de tous les matériaux incubés. Il convient que les utilisateurs du présent document connaissent les pratiques de laboratoire normales. Le présent document ne prétend pas aborder la totalité des aspects liés à la sécurité qui pourraient découler de son utilisation. Il incombe à l'utilisateur de mettre en place des pratiques de santé et de sécurité appropriées.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie le dénombrement de *Clostridium* (*C.*) *perfringens* par la technique de comptage des colonies.

Le présent document s'applique:

- aux produits destinés à la consommation humaine;
- aux produits destinés à l'alimentation animale;
- aux échantillons environnementaux prélevés dans les secteurs de la production et de la distribution des aliments;
- aux échantillons issus du stade de la production primaire.

NOTE Cette méthode a été validée dans le cadre d'une étude interlaboratoires pour les catégories d'aliments suivantes:

- les produits à base de viande prêts à consommer et prêts à réchauffer;
- les œufs et ovoproduits (dérivés);
- les fruits et légumes transformés;
- les préparations et céréales pour nourrissons;
- les aliments composés et les composants de repas.

Elle a également été validée pour les autres catégories suivantes:

- les produits destinés à l'alimentation animale et les aliments pour animaux;
- les échantillons environnementaux (production d'aliments ou d'aliments pour animaux).