

GÉLOSE SULFITE-FER (ISA) ISO 15213-1

DENOMBREMENT DES *CLOSTRIDIUM SPP.*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose sulfite-fer (ISA) ISO 15213-1 est recommandée pour le dénombrement des bactéries *Clostridium spp.* sulfito-réductrices.

Les bactéries *Clostridium spp.* sulfito-réductrices sont des bactéries anaérobies strictes, Gram-positives, en forme de bâtonnet, produisant des spores dont les espèces les plus connues sont *Clostridium perfringens*, *Clostridium bifermentans* et *Clostridium sporogenes*. Certaines espèces peuvent provoquer des intoxications alimentaires. Comme toutes les bactéries ubiquitaires, elles se trouvent principalement dans l'environnement. Les espèces *Clostridium* sont présentes dans le sol et dans le tube digestif des animaux et des humains.

Les bactéries *Clostridium spp.* sulfito-réductrices, y compris *C. perfringens*, sont couramment recherchées en tant qu'indicateurs microbiens de contamination lors de la fabrication d'aliments (par exemple, la production de viande). Elles peuvent produire des spores thermorésistantes.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 15213-1.

2 PRINCIPES

Les microorganismes *Clostridium spp.* sulfito-réducteurs réduisent le sulfite de sodium en sulfure, provoquant avec le citrate ferrique un précipité noir de sulfure de fer autour des colonies.

3 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	15,0 g
- Peptone papaïnique de soja	5,0 g
- Extrait autolytique de levure	5,0 g
- Métabisulfite de sodium	0,5 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	1,0 g
- Agar agar bactériologique.....	15,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.

4 PREPARATION

Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 42,0 g de milieu déshydraté (BK239) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**
42,0 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

Utilisation du milieu prêt-à-liquéfier en flacons ou en tubes :

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance) ou bien le milieu prêt-à-liquéfier (BM235), pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.

5 MODE D'EMPLOI

Préparer la suspension mère de l'échantillon et les dilutions décimales selon les règles définies dans les normes ISO 6887 correspondantes.

Dénombrement des bactéries *Clostridium spp.* sulfite-réductrices (ISO 15213-1)

Chauffer si besoin la série de dilutions décimales à 80 °C au bain-marie pendant 10 min ± 1 min afin de détruire les formes végétatives et d'activer les spores.

- Transférer 1 mL de l'inoculum et de ses dilutions décimales dans les boîtes.
- Couler environ 15 ml de milieu.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface plane.
- Ajouter une seconde couche de gélose et laisser solidifier.
- Incuber les boîtes en d'anaérobiose pendant (48±2) heures à 37±1 °C

6 LECTURE

Dénombrer les colonies noires ou grises à jaune-brun.

Effectuer les lectures dès l'ouverture de la jarre, dans les 30 minutes qui suivent, sinon les colonies risquent de pâlir par suite de l'oxydation du sulfure de fer.

Procéder à l'étape de confirmation pour le dénombrement de *Clostridium spp.* Si aucune confirmation n'est effectuée, les résultats peuvent être consignés sous la mention «bactéries anaérobies sulfite-réductrices».

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu de base déshydraté : poudre beige, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturale (Sulfite-fer (ISA) de l' ISO 15213-1) après 48±2 heures d'incubation à 37±1 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité)	Caractéristiques colonies
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	$P_R \geq 50 \%$	Noires
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	-	Colonies blanches, non caractéristiques

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieus prêts-à-liquéfier : 2-25 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-25 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g..... BK239HA

Milieux prêts-à-liquéfier :

Coffret de 10 flacons de 200 mL BM23508

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau. Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 15213-1. Février 2023. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Clostridium spp.* Partie 1 : dénombrement des bactéries *Clostridium spp.* sulfite-réductrices par la technique de comptage des colonies.

NF EN ISO 6887-1. Juin 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - 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.

NF EN ISO 6887-2. Juin 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - 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 carnés.

NF EN ISO 6887-3. Juin 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - 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.

NF EN ISO 6887-4. Juin 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - 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 variés.

NF EN ISO 6887-5. Mai 2020. Microbiologie de la chaîne alimentaire - 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.

NF EN ISO 6887-6. Mai 2013. Microbiologie de la chaîne alimentaire - 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

11 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : FT_SULFITE-FER GELOSE(ISA) (ISO 15213-1)_BK239_BM235_FR_V1

Date création : 06-2023

Date de révision : -

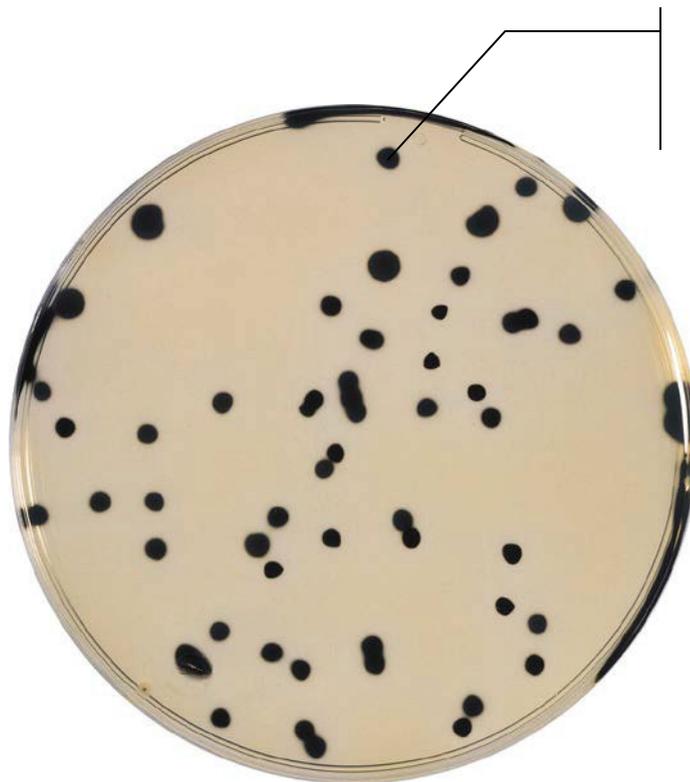
Motif de révision : Création de la référence

Gélose SULFITE-FER (ISA) (ISO 15213-1)

Détection et dénombrement des *Clostridium spp.* sulfito-réducteurs

Lecture :

Croissance obtenue après 48 ± 2 heures d'incubation à 37 ± 1 °C, en anaérobiose.



Clostridium spp.

Colonie caractéristique : noire
ou grise à jaune-brun