NORME INTERNATIONALE

ISO 11290-1

Deuxième édition
2017-05

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

Partie 1: Méthode de recherche

Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes *and of* Listeria *spp.* —

Part 1: Detection method

Numéro de référence
ISO 11290-1:2017(F)

© ISO 2017



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2017, Publié en Suisse

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland
Tel. +41 22 749 01 11
Fax +41 22 749 09 47
copyright@iso.org
www.iso.org

Sommaire

Page

Avant-propos ..... **v**
Introduction ..... **vii**
1 Domaine d'application **1**
2 Références normatives **1**
3 Termes et définitions **2**
4 Principe **2**
4.1 Généralités 2
4.2 Enrichissement primaire en milieu d'enrichissement sélectif liquide avec concentration réduite en agents sélectifs (bouillon Fraser-demi) 2
4.3 Enrichissement secondaire en milieu d'enrichissement sélectif liquide avec concentration complète en agents sélectifs (bouillon Fraser) 3
4.4 Isolement et identification 3
4.5 Confirmation 3
5 Milieux de culture et réactifs **3**
6 Matériel et consommables **3**
7 Échantillonnage **4**
8 Préparation de l'échantillon pour essai **4**
9 Mode opératoire **4**
9.1 Prise d'essai et suspension mère 4
9.2 Enrichissement primaire 4
9.3 Enrichissement secondaire 5
9.4 Isolement et identification 5
9.4.1 Généralités 5
9.4.2 Gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti 5
9.4.3 Deuxième milieu sélectif 6
9.5 Confirmation de *Listeria* monocytogenes ou de *Listeria* spp. 6
9.5.1 Sélection des colonies pour confirmation 6
9.5.2 Confirmation de *L. monocytogenes* 7
9.5.3 Confirmation de *Listeria* spp. 10
9.6 Interprétation des propriétés morphologiques et physiologiques et des réactions biochimiques 11
9.7 Caractérisation supplémentaire de souches isolées (facultative) 11
10 Expression des résultats **12**
11 Caractéristiques de performance de la méthode **12**
11.1 Études de validation de la méthode 12
11.2 Sensibilité 12
11.3 Spécificité 12
11.4 Niveau de détection (LOD_{50}) 12
12 Rapport d'essai **12**
13 Assurance qualité **12**
Annexe A (normative) **Logigramme du mode opératoire** **13**
Annexe B (normative) **Composition et préparation des milieux de culture et des réactifs** **14**
Annexe C (informative) **Distinction de *Listeria* spp. des autres genres** **27**
Annexe D (informative) **Réactions pour l'identification des espèces de *Listeria*** **28**
Annexe E (informative) **Géloses sélectives pour *Listeria*** **30**

© ISO 2017 – Tous droits réservés

Annexe F (informative) **Résultats des études interlaboratoires pour la recherche de *Listeria monocytogenes*** **31**

Bibliographie **36**

 © ISO 2017 – Tous droits réservés

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'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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/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 le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

Le présent document a été élaboré par le comité technique CEN/TC 275, *Analyse des produits alimentaires — Méthodes horizontales*, du Comité européen de normalisation (CEN) en collaboration avec le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires,* sous-comité SC 9, *Microbiologie*, de l'Organisation internationale de normalisation (ISO), conformément à l'accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 11290-1:1996) qui a fait l'objet d'une révision technique. Elle intègre également l'amendement ISO 11290-1:1996/Amd.1:2004.

Les principales modifications par rapport à ISO 11290-1:1996 sont les suivantes.

— La recherche de *Listeria monocytogenes* a été modifiée comme indiqué ci-dessous.

— Enrichissement primaire en bouillon Fraser-demi: incubation pendant 25 h ± 1 h.

— Enrichissement secondaire en bouillon Fraser: incubation pendant 24 h ± 2 h[29].

— Les bouillons Fraser-demi et Fraser peuvent être réfrigérés avant le transfert en bouillon Fraser ou l'isolement sur la gélose sélective pendant 72 h maximum.

— Stockage des boîtes d'isolement: les boîtes incubées peuvent être réfrigérées pendant deux jours maximum avant d'être lues.

— L'aspect microscopique pour la confirmation est facultatif si la gélose d'isolement permet de distinguer les *Listeria* spp. pathogènes et non pathogènes.

— Le test de CAMP et la réaction de la catalase sont facultatifs.

— Inclusion de nouvelles caractéristiques de performance.

© ISO 2017 – Tous droits réservés

— En outre, la détection des *Listeria* spp. a été incluse dans le domaine d'application et le titre modifié en conséquence.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 11290 est disponible sur le site web de l'ISO.

 © ISO 2017 – Tous droits réservés

Introduction

Les principales modifications, énumérées dans l'avant-propos, introduites dans ce document comparativement à l'ISO 11290-1:1996, sont considérées comme majeures (voir l'ISO 17468[28]). Les modifications techniques ont été évaluées et considérées comme n'ayant pas d'effet significatif sur les caractéristiques de performance de la méthode ou sur les résultats des essais.

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. Néanmoins, cette méthode horizontale est destinée à être appliquée chaque fois qu'il sera possible et l'on n'aura recours à des dérogations que pour des raisons techniques justifiées.

Lorsque le présent document sera réexaminé, 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 présente méthode horizontale existent peut-être déjà. Lorsque de telles normes viendront en révision, il serait souhaitable de les aligner avec le présent document et de ne conserver que les seules divergences justifiées indispensables pour des raisons techniques bien établies.

© ISO 2017 – Tous droits réservés

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

Partie 1: Méthode de recherche

AVERTISSEMENT — Afin de préserver la santé du personnel de laboratoire, il est essentiel que les essais de détection des *L. monocytogenes* et *Listeria* spp. ne soient réalisés que dans des laboratoires équipés à cet effet, sous le contrôle d'un microbiologiste expérimenté, et qu'un grand soin soit pris lors de l'élimination de tous les éléments incubés. Il convient que les utilisateurs du présent document maîtrisent les pratiques courantes de laboratoire. Le présent document ne prétend pas aborder la totalité des aspects liés à la sécurité qui pourraient découler de son utilisation. Il est de la responsabilité de l'utilisateur d'établir les pratiques de sécurité et de santé appropriées. Il est en particulier fortement recommandé que les essais de recherche de *L. monocytogenes* soient réalisés dans des laboratoires appliquant des conditions de biosécurité de niveau 2. Il est fortement recommandé que le personnel de laboratoire féminin soit informé du risque particulier pour le fœtus en développement dû à l'infection de la mère par le biais d'une exposition aux *L. monocytogenes* et *Listeria* spp., et que les femmes enceintes ainsi que le personnel de laboratoire souffrant de pathologies sous-jacentes ou affectant l'immunité cellulaire ne manipulent pas les cultures de *L. monocytogenes* et *Listeria* spp.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode horizontale pour:

— la recherche de *L. monocytogenes*; et

— la recherche de *Listeria* spp. (y compris *L. monocytogenes*).

Le présent document s'applique aux:

— produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale; et

— échantillons de l'environnement de production et de distribution des aliments.

Il est possible que cette méthode ne permette pas de détecter ou de confirmer certaines espèces de *Listeria* récemment décrites[5],[10],[12],[14],[25],[26],[27].

2 Références normatives

Les documents suivants cités dans le texte 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).

ISO 6887 (toutes les parties), *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*

ISO 7218, *Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations*

ISO 11133, *Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau — Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture*

© ISO 2017 – Tous droits réservés

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:

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse http://www.electropedia.org/.

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse http://www.iso.org/obp.

3.1
Listeria monocytogenes
micro-organismes formant des colonies typiques sur des milieux sélectifs solides et possédant les caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques décrites lorsque les essais sont effectués conformément au présent document

3.2
recherche de *Listeria monocytogenes*
détermination de la détection ou non-détection de *Listeria monocytogenes* (3.1), dans une masse ou un volume déterminé(e) de produit ou sur une surface spécifiée, lorsque les essais sont effectués conformément au présent document

3.3
***Listeria* spp.**
micro-organismes formant des colonies typiques sur des milieux sélectifs solides et possédant les caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques décrites lorsque les essais sont effectués conformément au présent document

3.4
recherche de *Listeria* spp.
détermination de la détection ou non-détection de *Listeria* spp. (3.3), dans une masse ou un volume déterminé(e) de produit ou sur une surface spécifiée, lorsque les essais sont effectués conformément au présent document

4 Principe

4.1 Généralités

Les *Listeria* spp. peuvent être présentes en petit nombre et sont souvent accompagnées d'un nombre beaucoup plus élevé d'autres micro-organismes; un enrichissement sélectif est donc nécessaire. De plus, il est aussi nécessaire de rechercher les *Listeria* spp. ayant subi un stress et le milieu d'enrichissement sélectif primaire, présentant une concentration réduite en inhibiteurs, permet de remplir au moins en partie cette fonction.

NOTE La présence de *L. monocytogenes* peut être masquée par la présence d'autres espèces de *Listeria*, en particulier *L. innocua* ou *L. ivanovii*.

Dans le cadre du présent document, la recherche de *L. monocytogenes* et de *Listeria* spp. nécessite quatre phases successives, comme décrit dans le logigramme de l'Annexe A.

4.2 Enrichissement primaire en milieu d'enrichissement sélectif liquide avec concentration réduite en agents sélectifs (bouillon Fraser-demi)

Inoculation d'un milieu d'enrichissement sélectif primaire, contenant la moitié des concentrations d'acriflavine et d'acide nalidixique (bouillon Fraser-demi, voir B.1), qui est également utilisé comme diluant pour la prise d'essai (9.1).

Incubation de la suspension mère à 30 °C pendant 24 h à 26 h.

© ISO 2017 – Tous droits réservés

4.3 Enrichissement secondaire en milieu d'enrichissement sélectif liquide avec concentration complète en agents sélectifs (bouillon Fraser)

Inoculation du milieu d'enrichissement secondaire liquide complet (bouillon Fraser) avec une culture obtenue comme indiqué en 4.2.

Incubation du bouillon Fraser à 37 °C pendant 24 h[29].

4.4 Isolement et identification

À partir des cultures obtenues en 4.2 et 4.3, isolement sur les deux milieux sélectifs solides:

— gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti (voir Références [16] et [17] et B.3);

— tout autre milieu sélectif solide choisi par le laboratoire, complémentaire à la gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti, utilisant un substrat et/ou principe différent de celui utilisé dans la gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti (voir B.4). Voir l'Annexe E pour des informations sur les milieux.

Incubation de la gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti à 37 °C pendant un total de 48 h. Si des colonies présumées de *L. monocytogenes* ou de *Listeria* spp. sont visibles à 24 h, l'incubation peut être arrêtée à ce stade. Incubation du deuxième milieu sélectif à la température appropriée et lecture après le temps approprié.

4.5 Confirmation

Repiquage des colonies présumées de *L. monocytogenes* ou de *Listeria* spp., isolées comme décrit en 4.4, et confirmation par des essais morphologiques et/ou biochimiques appropriés.

5 Milieux de culture et réactifs

Pour les pratiques courantes de laboratoire, voir l'ISO 11133.

La composition et les essais de performance des milieux de culture et des réactifs et leur préparation sont décrits à l'Annexe B.

6 Matériel et consommables

Matériel de microbiologie courant (comme précisé dans l'ISO 7218) et, en particulier, ce qui suit.

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

Comme spécifié dans l'ISO 7218.

6.2 Enceinte de séchage ou étuve, pouvant être maintenue à une température comprise entre 25 °C et 50 °C.

6.3 Étuves, réglables à 30 °C ± 1 °C, 37 °C ± 1 °C et à 25 °C ± 1 °C (facultatif).

6.4 Bain d'eau, réglable de 47 °C à 50 °C.

6.5 Anses bouclées stériles d'environ 3 mm de diamètre ou de 10 µl, et **aiguille** ou **fil** à ensemencer.

6.6 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.

6.7 Pipettes graduées ou pipettes automatiques, de capacités nominales de 1 ml et 10 ml.

© ISO 2017 – Tous droits réservés