
**Microbiologie des aliments — Méthode
horizontale pour la recherche et le
dénombrement de *Listeria
monocytogenes* —**

Partie 1:

Méthode de recherche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

**AMENDEMENT 1: Modification des milieux
d'isolement, de la recherche de l'hémolyse
et introduction de données de fidélité**

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ef7be669-6108-4559-9de2-56d079170f29/iso-11290-1-1996-amd-1-2004>

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for
the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* —*

Part 1: Detection method

*AMENDMENT 1: Modification of the isolation media, of the haemolysis
test and inclusion of precision data*



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 11290-1:1996/Amd 1:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ef7be669-6108-4559-9de2-56d079170f29/iso-11290-1-1996-amd-1-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ef7be669-6108-4559-9de2-56d079170f29/iso-11290-1-1996-amd-1-2004>

© 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

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'Amendement 1 à l'ISO 11290-1:1996 a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

Le présent Amendement porte sur la modification des milieux d'isolement et de la recherche de l'hémolyse ainsi que sur l'introduction de données de fidélité.

ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ef7be669-6108-4559-9de2-56d079170f29/iso-11290-1-1996-amd-1-2004>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ef7be669-6108-4559-9de2-56d079170f29/iso-11290-1-1996-amd-1-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ef7be669-6108-4559-9de2-56d079170f29/iso-11290-1-1996-amd-1-2004>

Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* —

Partie 1: Méthode de recherche

AMENDEMENT 1: Modification des milieux d'isolement, de la recherche de l'hémolyse et introduction de données de fidélité

Page 2, Paragraphe 4.3

Remplacer le paragraphe existant par le nouveau paragraphe suivant:

4.3 Isolement et identification

À partir des cultures obtenues en 4.1 et 4.2, isolement sur les deux milieux sélectifs solides:

- gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti [ALOA¹] (voir Référence [1] et Article B.3);
- un autre milieu sélectif solide laissé au choix du laboratoire et complémentaire de la gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti, tel que Oxford ou PALCAM.

Incuber la gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ et examiner après $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ et, si nécessaire, après $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ supplémentaires, pour détecter la présence de colonies caractéristiques présumées *L. monocytogenes*.

Incuber le deuxième milieu sélectif à la température appropriée et examiner après le temps approprié.

Page 2, Paragraphes 5.4.1 et 5.4.2

Remplacer les paragraphes existants par les nouveaux paragraphes suivants:

5.4.1 Premier milieu: gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti [ALOA¹] [1]

Voir Article B.3.

5.4.2 Deuxième milieu

Le choix du deuxième milieu est laissé à la discrétion du laboratoire. Dans le cas d'utilisation de milieux commerciaux, suivre les instructions du fabricant en ce qui concerne la préparation.

1) ALOA est un exemple de milieu approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 11290 et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. D'autres milieux ayant la même formulation peuvent être utilisés.

Page 4, Paragraphe 9.4

Remplacer le Paragraphe 9.4.1 existant par le nouveau Paragraphe 9.4.1 suivant:

9.4.1 À partir de la culture d'enrichissement primaire, incubée pendant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ à 30 °C (9.2), ensementer, à l'aide d'une anse bouclée, la surface du premier milieu d'isolement (gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti) (5.4.1) pour obtenir des colonies bien séparées.

Procéder de la même façon avec le deuxième milieu d'isolement sélectif (5.4.2).

Remplacer le Paragraphe 9.4.3 existant par le nouveau Paragraphe 9.4.3 suivant:

9.4.3 Retourner les boîtes obtenues en 9.4.1 et 9.4.2 et les incuber dans une étuve réglée à 37 °C pour la gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti (5.4.1) et à la température appropriée pour le second milieu d'isolement (5.4.2). Dans le cas d'utilisation de milieux commerciaux, en ce qui concerne le deuxième milieu d'isolement, suivre les instructions du fabricant.

Supprimer la Note 6.

Remplacer le Paragraphe 9.4.4 existant par le nouveau Paragraphe 9.4.4 suivant:

9.4.4 Après incubation pendant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ (et une incubation additionnelle de $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ si la croissance est faible ou s'il n'y a pas de colonie observée après 24 h d'incubation) pour la gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti ou pour le temps additionnel approprié (deuxième milieu sélectif), examiner les boîtes (9.4.3) et la présence de colonies présumées *Listeria* spp.

ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ef7be669-6108-4559-9de2-56d079170f29/iso-11290-1-1996-amd-1-2004>

Remplacer le Paragraphe 9.4.4.1 existant par le nouveau Paragraphe 9.4.4.1 suivant:

9.4.4.1 Gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti: considérer comme *L. monocytogenes* les colonies vertes-bleues entourées d'un halo opaque (colonies typiques). Dans le cas de croissance faible ou si aucune colonie n'est observée après $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ d'incubation, incubé à nouveau les boîtes pendant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ supplémentaires.

NOTE 1 Certaines souches de *L. monocytogenes* sont entourées d'un halo très pâle (ou même ne montrent aucun halo) en cas de stress, particulièrement de stress acide.

NOTE 2 Certaines *L. monocytogenes* sont caractérisées par une activité C phospholipase inositol phosphatidyl lente. De telles bactéries sont détectées lorsque la durée totale de l'incubation est plus longue, par exemple, que 4 jours. Certaines de ces souches peuvent être pathogènes (voir Référence [2]).

Remplacer le Paragraphe 9.4.4.2 existant par le nouveau Paragraphe 9.4.4.2 suivant:

9.4.4.2 Deuxième milieu d'isolement: en fonction du milieu utilisé, examiner, après la période d'incubation appropriée, la présence de colonies qui, selon leur apparence, sont considérées comme des *Listeria* spp. ou *L. monocytogenes* présumées.

Page 5, Paragraphe 9.6.1 Recherche de l'hémolyse

Au début du premier alinéa du texte existant, insérer, en caractères gras, le numéro de paragraphe 9.6.1.1.

Page 6

Remplacer la Note 9 par le nouveau Paragraphe 9.6.1.2 suivant:

9.6.1.2 La réaction hémolytique peut également être déterminée en utilisant des hématies de sang de mouton.

Emulsionner la colonie dans 150 µl de TSYEB (B.6); incuber à 37 °C pendant 2 h. Ajouter 150 µl de suspension d'hématies de sang de mouton (B.4). Incuber à 37 °C pendant 15 min à 60 min, puis réfrigérer à 3 °C ± 2 °C pendant 2 h environ. Examiner alors la présence ou l'absence d'hémolyse. Si la réaction est douteuse, laisser à 3 °C ± 2 °C pendant 24 h supplémentaires.

Page 8

À la suite de l'Article 10, ajouter le nouvel Article 11 suivant:

11 Fidélité de la méthode

11.1 Généralités

Exprimer la fidélité d'une méthode qualitative par les paramètres de répétabilité et reproductibilité n'est pas possible; ceux-ci ne sont calculés que dans le cas de méthodes quantitatives. De nouvelles caractéristiques de performance ont donc été sélectionnées (voir Référence [3]). Ce sont: l'exactitude (sensibilité pour les échantillons positifs, spécificité pour les échantillons négatifs), le degré d'accord et la concordance (voir 11.2, 11.3 et 11.4).

Les valeurs de ces caractéristiques de performance ont été déterminées lors d'un essai interlaboratoires organisé dans le cadre d'un Projet européen (voir Annexe D). Les caractéristiques de performance ont été déterminées à partir de trois types d'aliments contaminés à différents niveaux ainsi qu'avec un matériau de référence. Les valeurs issues de l'étude interlaboratoires ne sont pas forcément applicables à d'autres matrices et d'autres niveaux de concentration que ceux donnés en Annexe D.

AVERTISSEMENT — La méthode testée lors de l'essai n'avait pas pris en compte le présent amendement, c'est-à-dire que les milieux d'isolement utilisés ont été les géloses PALCAM et Oxford. Les données de fidélité donnent des orientations générales pour l'utilisateur sur les performances globales de la méthode et les données de fidélité sont applicables en particulier à la présente partie de l'ISO 11290 conjointement avec l'amendement quand le deuxième milieu d'isolement est soit Oxford soit PALCAM.

11.2 Exactitude

11.2.1 Définition

L'exactitude est le pourcentage d'échantillons correctement analysés.

Dans le cas d'échantillons positifs, l'exactitude est appelée sensibilité et représente le pourcentage d'échantillons correctement analysés comme étant positifs. Dans la cadre de ces calculs, il est supposé que tous les échantillons positifs sont présumés contenir le micro-organisme.

Dans le cas d'échantillons négatifs, l'exactitude est appelée spécificité et représente le pourcentage d'échantillons correctement analysés comme étant négatifs.

11.2.2 Valeurs générales

La valeur de spécificité suivante (S_p) peut être utilisée en tant qu'indication générale et lors d'analyses d'échantillons d'aliments en général: $S_p = 97,4 \%$.

La valeur de sensibilité suivante (S_e) peut être utilisée en tant qu'indication générale et lors d'analyses d'échantillons d'aliments en général: $S_e = 85,2 \%$.

Pour les matériaux de référence (capsules contenant 23 UFC, préparées par le RIVM, Pays-Bas, pour les essais), la valeur suivante a été obtenue: $S_e = 89,5 \%$.

Ces valeurs peuvent être interprétées de la façon suivante: un échantillon contaminé avec des *L. monocytogenes* sera détecté positif dans 82,5 % des cas quand l'analyse aura été menée suivant la méthode décrite dans la présente partie de l'ISO 11290.

11.3 Degré d'accord

11.3.1 Définition

Le degré d'accord est le pourcentage de chance de trouver le même résultat (c'est-à-dire tous les deux positifs ou tous les deux négatifs) pour deux échantillons identiques analysés dans le même laboratoire, dans des conditions de répétabilité (c'est-à-dire un seul opérateur utilisant le même appareillage et les mêmes réactifs dans un intervalle de temps le plus court possible).

Le degré d'accord est ainsi l'équivalent de la répétabilité pour les méthodes quantitatives.

Pour obtenir le degré d'accord des résultats d'une étude interlaboratoires, déterminer la probabilité que deux échantillons identiques donnent le même résultat pour chaque laboratoire participant, puis faire la moyenne de l'ensemble de ces probabilités.

11.3.2 Valeurs générales

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ef7be669-6108-4559-9de2-56d079170f29/iso-11290-1-1996-amd-1-2004>

La valeur du degré d'accord suivant (A_c) peut être utilisée en tant qu'indication générale et lors d'analyse d'échantillons d'aliments en général: $A_c = 88,7 \%$.

Pour les matériaux de référence (capsules contenant 23 UFC, préparées par le RIVM, Pays-Bas, pour les essais), les valeurs suivantes peuvent être utilisées: $A_c = 88,2 \%$.

Ces valeurs peuvent être interprétées de la façon suivante: si deux prises d'essai identiques d'un échantillon contaminé par des *L. monocytogenes* sont analysées par le même opérateur, dans un court intervalle de temps et dans les mêmes conditions opératoires, il y a alors 88,7 % de chance d'obtenir le même résultat (présence de *L. monocytogenes*) pour les deux prises d'essai.

11.4 Concordanance

11.4.1 Définition

La concordanance est le pourcentage de chance de trouver le même résultat pour deux échantillons identiques analysés dans deux différents laboratoires.

La concordanance est donc l'équivalent de la reproductibilité pour les méthodes quantitatives.

Pour calculer la concordanance à partir des résultats d'une étude interlaboratoires, prendre tour à tour chaque réplicat dans chaque laboratoire participant, l'apparier avec les résultats identiques de tous les autres laboratoires. La concordanance est le pourcentage de toutes les paires donnant les mêmes résultats sur toutes les paires possibles de résultats.

11.4.2 Valeurs générales

La valeur de la concordance suivante (Cc) peut être utilisée en tant qu'indication générale et lors d'analyses d'échantillons d'aliments en général: Cc = 84,4 %.

Pour les matériaux de référence (capsules contenant 23 UFC, préparées par le RIVM, Pays-Bas, pour les essais), les valeurs suivantes peuvent être utilisées: Cc = 80,8 %.

Ces valeurs peuvent être interprétées de la façon suivante: si deux prises d'essai identiques d'un échantillon contaminé par des *L. monocytogenes* sont analysées par deux laboratoires, il y a alors 84,4 % de chance d'obtenir le même résultat (présence de *L. monocytogenes*) pour les deux prises d'essai.

Page 8

Renommer l'Article 11 existant pour devenir Article 12.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

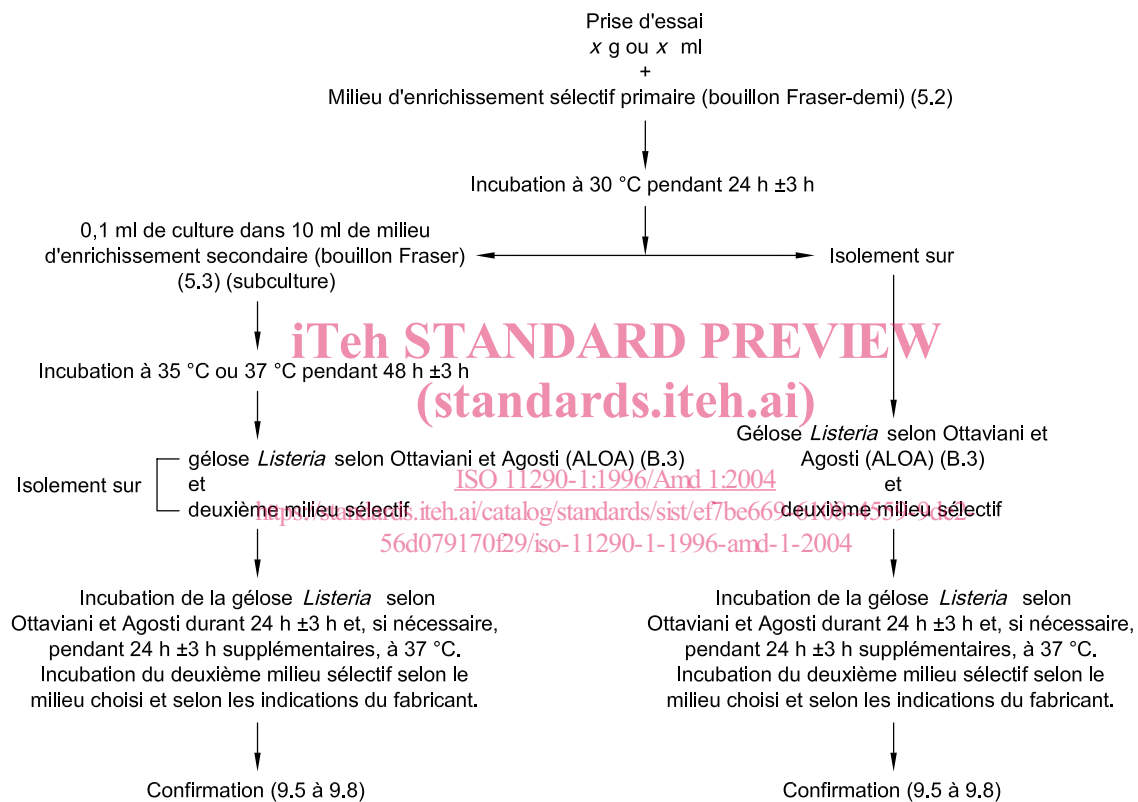
[ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ef7be669-6108-4559-9de2-56d079170f29/iso-11290-1-1996-amd-1-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ef7be669-6108-4559-9de2-56d079170f29/iso-11290-1-1996-amd-1-2004>

Remplacer l'Annexe A existante par la nouvelle Annexe A suivante:

Annexe A (normative)

Diagramme de procédure



Remplacer l'Article B.3 existant par le nouvel Article B.3 suivant:

B.3 Gélose *Listeria* selon Ottaviani et Agosti [ALOA²⁾]

B.3.1 Milieu de base gélosé

B.3.1.1 Composition

Digestat enzymatique de tissu animal	18 g
Digestat enzymatique de caséine	6 g
Extrait de levure	10 g
Pyruvate de sodium	2 g
Glucose	2 g
Glycérophosphate de magnésium	1 g
Sulfate de magnésium (anhydre)	0,5 g
Chlorure de sodium	5 g
Chlorure de lithium	10 g
Hydrogénophosphate disodique anhydre	2,5 g
5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucopyranoside	0,05 g
Agar	12 g à 18 g ^a
Eau	930 ml ^b

^a Selon le pouvoir gélifiant de l'agar.
^b 925 ml dans le cas d'utilisation d'une solution d'amphotéricine B (voir B.3.5.2).

B.3.1.1 Préparation

Dissoudre les composants déshydratés ou le milieu de base complet déshydraté dans l'eau en portant à ébullition.

Stériliser pendant 15 min à l'autoclave réglé à 121 °C.

Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de $7,2 \pm 0,2$.

B.3.2 Solution d'acide nalidixique

Sel de sodium d'acide nalidixique	0,02 g
Hydroxyde de sodium	5 ml

Dissoudre le sel de sodium d'acide nalidixique dans 5 ml d'hydroxyde de sodium, puis stériliser par filtration.

2) ALOA est un exemple de milieu approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 11290 et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. D'autres milieux ayant la même formulation peuvent être utilisés.