

1 DOMAINE D'UTILISATION

IRIS Salmonella® constitue une méthode alternative de recherche des salmonelles dans les produits d'alimentation humaine et animale, ainsi que dans les échantillons de l'environnement (à l'exclusion des échantillons de production primaire).

Les analyses peuvent être déclarées négatives dès 37 heures après les étapes d'enrichissement (**IRIS Salmonella**® Enrichissement) et de différenciation (**IRIS Salmonella**® Agar).

La méthode permet la détection de toutes les salmonelles, mobiles et immobiles.

La confirmation d'éventuels échantillons présomptivement positifs sera réalisée à l'aide d'un test Latex (**CONFIRM' Salmonella**) ou par les tests classiques décrits dans les méthodes normalisées.

IRIS Salmonella® est officiellement certifié NF VALIDATION, sous Attestation N° BKR 23/07 - 10/11, dont le terme de validité est fixé au 07 octobre 2015.

2 PRINCIPES

- L'étape de dilution au 1 /10^{ème} du produit à analyser est réalisée conformément aux recommandations de la norme NF EN ISO 6579 dans le bouillon **Salmonella Enrichissement**. La formule de **Salmonella Enrichissement** est conforme à celle de l'eau peptonée tamponnée.
- L'étape d'enrichissement est réalisée en ajoutant le supplément sélectif IRIS à 225 mL de bouillon et 25 g de produit. Le bouillon obtenu, **IRIS Salmonella**® Enrichissement, est alors incubé pendant (18 ± 2) heures à (41,5 ± 1,0)°C.
- L'étape de différenciation est mise en œuvre par ensemencement de 10 µL sur **IRIS Salmonella**® Agar et incubation pendant (24 ± 3) heures à 37°C. Les salmonelles donnent des colonies magenta tandis que les colonies des autres espèces sont bleues, violacées ou incolores.
- L'éventuelle étape de confirmation peut être réalisée par les tests classiques décrits dans les méthodes normalisées ou par **CONFIRM' Salmonella** (test au latex), directement à partir d'une colonie magenta isolée sur **IRIS Salmonella**® Agar.

3 FOCUS SUR IRIS SALMONELLA® AGAR

Les études réalisées avec **IRIS Salmonella**® Agar démontrent sa grande spécificité pour la détection des salmonelles, y compris les espèces et les sérovars atypiques, sources de confusions sur d'autres milieux. Ainsi, la mise en évidence des *Salmonella* Typhi et Paratyphi, des *Salmonella* lactose-positif (*Salmonella* Senftenberg et sous-espèces *S. arizonae* et *S. diarizonae*), des souches saccharose-positif est assurée. Le milieu permet la détection des sérovars immobiles (*S. Pullorum* et *S. Gallinarum*) ou des souches monophasiques.

IRIS *Salmonella*[®] Agar permet également de détecter les souches présentant une activité estérasique faible à nulle sur d'autres milieux (*Salmonella Bongori*, *Salmonella* Dublin et Atento, quelques unes des sous-espèces *S. houtenae* et *S. diarizonae*).

Les agents sélectifs assurent l'inhibition des bactéries à Gram positif et de certaines bactéries à Gram négatif.

IRIS *Salmonella*[®] Agar peut également être utilisée dans les méthodes normalisées pour la recherche de *Salmonella*, comme second milieu d'isolement.

4 FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustées de façon à obtenir des performances optimales)

***Salmonella* Enrichissement (BK194, BM136, BM137 ou BM144)**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone 10 g
- Chlorure de sodium 5 g
- Tampon phosphates 5,06 g

IRIS *Salmonella*[®] Supplément

Pour 225 ML de *Salmonella* Enrichissement

- Système sélectif0,1 g
- Colorant.....0,005 g

IRIS *Salmonella*[®] Agar

Pour 1040 mL de gélose

- Peptone 10 g
- Extrait de levure5 g
- Chlorure de sodium 5 g
- Tampon phosphate 7 g
- Agents inhibiteurs..... 10.2 g
- Mélange chromogène..... 1 g
- Agar agar bactériologique 16 g
- Opacifiant 30 mL

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

5 PREPARATION

***Salmonella* Enrichissement (BK194)**

- Mettre en solution 20,0 g de milieu déshydraté (BK194) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.



20,0 g/L



15 min à 121°C

6 MODE D'EMPLOI

Respecter les bonnes pratiques de laboratoire (se référer à la norme NF EN ISO 7218).

Enrichissement

- Introduire aseptiquement x g de produit à analyser dans y mL de *Salmonella* Enrichissement prêt-à-l'emploi, en respectant le facteur de dilution 1 g /9 mL.
- Homogénéiser parfaitement.
- Introduire le **supplément liquide IRIS *Salmonella***® à raison de 0.1 mL / g de produit (soit 2.5 mL pour 25 g de produit) pour le supplément liquide (BS078)
ou
- Introduire un comprimé de supplément **IRIS *Salmonella***® (BS077) pour 225 mL de *Salmonella* Enrichissement
- Incuber le bouillon à (41,5 ± 1,0)°C pendant (18 ± 2) heures.

 **Enrichissement avec supplément**

 **Incubation 18 h à 41,5°C**

Note 1 : Pour des raisons d'organisation des laboratoires, l'incubation peut être poursuivie jusqu'à 24 heures.

De la même façon, les bouillons peuvent ensuite être conservés 3 jours à 2-8°C avant d'être repiqués sur *IRIS Salmonella* Agar.

Note 2 : Dans le cadre de la marque NF VALIDATION, les prises d'essais supérieures à 25 g n'ont pas été testées.

Différenciation

- Repiquer 10 µL de l'enrichissement obtenu sur **IRIS *Salmonella***® Agar.
- Incuber à (37,0 ± 1,0)°C pendant (24 ± 3) heures.

 **Repiquage 10 µL**

 **Incubation 24 h à 37°C**

Note 3 : Pour des raisons d'organisation des laboratoires, les géloses peuvent ensuite être conservées 3 jours à 2-8°C avant d'être lues et de réaliser les éventuelles confirmations.

7 LECTURES

L'aspect des colonies est le suivant

Microorganismes	Caractéristiques des colonies
<i>Salmonella</i> spp (y compris <i>Salmonella</i> Typhi, Paratyphi, lactose-positif, saccharose-positif, immobile, monophasique, Dublin, <i>Bongori</i>)	Rosé à Magenta
<i>Escherichia coli</i>	Incolores
<i>Enterobacter</i> spp, <i>Klebsiella</i> spp	Bleu vert à violet
<i>Proteus</i> spp	Incolores à brunâtres
Gram positif	Inhibés

8 CONFIRMATIONS

Dans le cadre de la marque NF VALIDATION, tous les résultats positifs doivent être confirmés de la (l'une des) manière(s) suivante(s) :

- Option 1 : Mise en œuvre des tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification), en repartant d'une colonie magenta isolée sur IRIS *Salmonella*® Agar.
- Option 2 : Mise en œuvre de CONFIRM' *Salmonella* (test au latex)

En cas de résultats discordants (positifs par la méthode alternative, non confirmés par l'une des options décrites ci-dessus, et en particulier pour le(s) test(s) Latex), le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu.

9 CONTROLE QUALITE

- **Salmonella Enrichissement :**

Milieu préparé : solution ambrée, limpide, pouvant présenter un très léger précipité après conservation.

- **IRIS Salmonella® Agar :**

Réponse culturale de croissance après (18 ± 2) heures d'incubation à (41,5 ± 1,0)°C sur IRIS *Salmonella*® Enrichissement, puis (24 ± 3) heures d'incubation à (37 ± 1,0)°C sur IRIS *Salmonella*® Agar

Mélanges / Microorganismes		Croissance sur IRIS <i>Salmonella</i> ® Agar
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030	Colonies magenta
+ <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Partiellement inhibée, colonies incolores
+ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025	Inhibé
<i>Salmonella</i> Typhimurium	WDCM 00031	Colonies magenta
+ <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Partiellement inhibée, colonies incolores
+ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025	Inhibé
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Partiellement inhibée, colonies incolores
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inhibée

10 STOCKAGE - CONSERVATION

Salmonella Enrichissement

- Milieu déshydraté : 2-30°C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

- Milieu préparé en flacons ou en tubes : Se référer à la norme XP CEN ISO/TS 11133-1
- Milieux prêts-à-l'emploi en flacons ou en poches : 2-25°C, à l'abri de la lumière.

Les dates de péremption sont mentionnées sur l'étiquette.

Supplément IRIS *Salmonella*®

- Supplément liquide : 2-8°C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

- Comprimés : 2-8°C

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

IRIS *Salmonella*® Agar

- Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) : 2-8°C.
La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

CONFIRM' *Salmonella*

- Kit : 2-8°C
La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

11 PRESENTATION

Salmonella Enrichissement :

- Flacon de 500 gBK194HA
- Fût de 5 kg..... BK194GC
- Pack de 10 flacons de 225 mLBM13608
- Carton de 3 poches souples de 3 litresBM13708
- Carton de 2 poches souples de 5 litresBM14408

Supplément IRIS *Salmonella*®

- Coffret de 10 flacons de 50 mLBS07808
- Coffret de 120 comprimés.....BS07708

IRIS *Salmonella*® Agar

- Coffret de 20 boîtes de Petri (Ø 90 mm)BM16008
- Coffret de 120 boîtes de Petri (Ø 90 mm)BM16108

CONFIRM' *Salmonella*

- Kit d'agglutination au Latex.....BT01108

12 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF EN ISO 16140 (V 08-103). Microbiologie des aliments. Protocole pour la validation des méthodes alternatives.

XP CEN ISO/TS 11133-1. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 1 : lignes directrices générales d'assurance qualité pour la préparation des milieux de culture en laboratoire.

XP CEN ISO/TS 11133-2/A1 (V 08-104-2/A1). 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 - Amendement 1 : micro-organismes pour essai recommandés pour les milieux de culture les plus usuels.

NF EN ISO 7218 (V 08-002). Microbiologie des Aliments. Exigences générales et recommandations.

NF EN ISO 6579 (V 08-013). Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. Modifié par amendement NF EN ISO 6579/A1.

NF EN ISO 6579/A1 (V08-013/A1). Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la Recherche des *Salmonella* spp. - Amendement 1 : annexe D : recherche de *Salmonella* spp. dans les matières fécales des animaux et dans des échantillons environnementaux au stade de la production primaire.

SUPPORT PHOTO :

Références : BS07808, BM16008/BM16108.

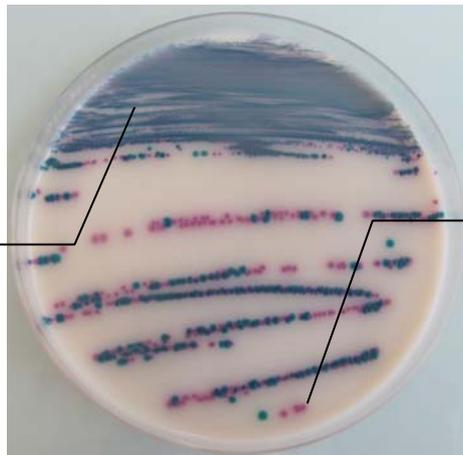


Domaine d'utilisation : Détection des salmonelles.

Enterobacter spp

Aspect non caractéristique

Colonies bleues



Salmonella spp

Aspect caractéristique

Colonies magenta

IRIS *Salmonella*® Agar

Réf : BM16008

Incubation 24 ± 3 heures à 37°C

Les salmonelles présentent des colonies magenta.

13 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.

Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : BM160/F/2011-02 :2
Date création : 01-02-2011
Dernière mise à jour : 16-11-2011



BKR 23/07 – 10/11

METHODES ALTERNATIVES D'ANALYSE POUR L'AGROALIMENTAIRE

Certifié par AFNOR Certification

www.afnor-validation.org

IRIS Salmonella® est une marque déposée de SOLABIA S.A.S.

Motif de la révision : Remaniement général
Validation méthode