



# Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger

Direction des aliments

Direction générale des produits de santé et des aliments  
Santé Canada

Numéro d'identification : FD-FSNP 0071  
Date de diffusion : Novembre 3, 2010.  
Date d'entrée en vigueur : Avril 1, 2011.



## Table des matières

1. Sommaire .....	3
2. Objectifs et Portée .....	4
3. Rôles et Responsabilités .....	5
3.1 Industrie .....	5
3.2 Gouvernement.....	5
3.3 Consommateurs .....	6
4. Contexte .....	6
5. Fondement scientifique des critères pour le contrôle de la présence de <i>Listeria monocytogenes</i> dans les aliments prêts-à-manger .....	8
6. Critères de conformité pour le contrôle de la présence de <i>Listeria monocytogenes</i> dans les aliments prêts-à-manger .....	9
6.1 Attribution d’une classification de risque pour les aliments prêts-à-manger, en fonction du risque pour le consommateur.....	9
6.2 Mise en application des critères pour les aliments prêts-à-manger canadiens, importés et exportés.....	12
6.2.1. Usines canadiennes : .....	12
6.2.1.1. Contrôle environnemental.....	12
6.2.1.2. Contrôle des produits.....	12
6.2.2. Produits PAM importés : .....	13
6.2.3. Produits PAM exportés : .....	14
7. Réalisation de la conformité avec les critères établis pour les aliments prêts-à-manger.....	14
7.1 Exigences en matière de fabrication des produits alimentaires prêts-à-manger .....	14
7.2 Échantillonnage environnemental (Figures 1, 2 et 3).....	15
7.3 Échantillonnage et analyse des produits finis d’aliments prêts-à-manger .....	25
7.4 Importance de l’analyse des tendances et des outils d’assurance de la qualité.....	29
8. Développement de matériel éducatif à l’intention des consommateurs et de toute autre personne concernée par la manipulation et la préparation des aliments.....	29
8.1. Contributions des scientifiques de Santé Canada à la publication de renseignements sur la listériose d’origine alimentaire .....	30
Annexe A : Définitions.....	31
Annexe B : Importantes éclosions signalées de listériose d’origine alimentaire .....	38
Annexe C : Utilisation d’additifs alimentaires, d’aides à la transformation et/ou de traitements de post-létalité pour les aliments prêts-à-manger .....	42
Annexe D : Isolement de <i>Listeria monocytogenes</i> dans tous les types d’aliments et les échantillons environnementaux.....	44
Annexe E : Dénombrement de <i>Listeria monocytogenes</i> dans les aliments .....	62
Références.....	71

## 1. Sommaire

Le document canadien « Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger » (ci-après appelé la politique sur la *Listeria*) repose sur les bonnes pratiques de fabrication<sup>1</sup> (BPF) et les principes de l'analyse des risques et la maîtrise des points critiques (sigle anglais : HACCP; voir l'annexe A). Cette politique a été élaborée suivant une stratégie d'analyse des risques pour la santé (ARS) et fait appel à une combinaison d'activités d'inspection, de prélèvement d'échantillons environnementaux<sup>2</sup> et d'analyses de produits finis visant à vérifier le contrôle de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger (PAM), lesquels sont décrits à l'annexe A. L'accent de la politique est placé sur la vérification et le contrôle de l'environnement, surtout dans les secteurs de la post-létalité, selon le cas. Cette politique s'applique aux aliments PAM vendus au Canada, produits au pays ou importés. La présente politique révisé et remplace la Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger datée du 4 octobre 2004.

Voici les principales différences entre la présente politique et le document de 2004 :

- 1) De nouveaux critères de conformité des produits finis ont été élaborés, ceux-ci sont similaires aux normes de la Commission internationale du *Codex Alimentarius* (CCA, 2009a).
- 2) Les définitions des aliments PAM dans lesquels *L. monocytogenes* peut ou non se multiplier ont été modifiées et/ou élaborées. Les données de validation qui supportent la catégorisation des aliments PAM (c.-à-d., catégories 2A ou 2B) seront revues par les autorités réglementaires. La liste des produits alimentaires mis en cause dans les éclosions de listériose a été mise à jour.
- 3) L'arbre décisionnel des mesures de conformité, y compris les analyses effectuées sur des échantillons prélevés dans l'environnement de l'usine pour *Listeria* spp.<sup>3</sup> et les analyses réalisées sur le produit fini pour détecter la présence de *L. monocytogenes*, a été modifié pour incorporer des précisions supplémentaires sur l'échantillonnage.
- 4) La présente politique précise désormais que le programme de surveillance de l'environnement devrait être inclus pour toute usine qui produit des aliments PAM, tels que définis dans cette politique.
- 5) La politique encourage l'utilisation de traitements de post-létalité et/ou d'inhibiteurs de croissance de *L. monocytogenes*.
- 6) Un accent plus poussé a également été mis sur la diffusion par la collectivité fédérale/provinciale/territoriale (FPT) afin de mieux faire comprendre les risques de listériose d'origine alimentaire et de fournir au personnel des institutions, dans lesquelles les personnes très vulnérables peuvent être exposées, une orientation sur la façon de réduire les risques de contracter une listériose.

<sup>1</sup> Dans le contexte, le terme BPF est utilisé de façon générique et inclut toutes les conditions et mesures de contrôle nécessaires pour que les transformateurs puissent assurer la sécurité et la qualité des aliments pendant leur production.

<sup>2</sup> Aux fins du présent document, ces échantillons englobent les surfaces qui entrent en contact avec les aliments (SCA) et les surfaces qui n'entrent pas en contact avec les aliments (SNCA).

<sup>3</sup> Aux fins du présent document, *Listeria* spp. comprennent *L. monocytogenes*.

La présente politique regroupe les aliments PAM dans deux catégories, selon les risques pour la santé. Les aliments de la **catégorie 1** sont les produits dans lesquels la croissance de *L. monocytogenes* peut survenir (voir l'annexe A). Ces aliments devraient avoir la plus haute priorité autant pour l'industrie qui devrait s'assurer d'en faire la vérification et d'en avoir la maîtrise que pour les responsables de la réglementation qui en font la surveillance afin de s'assurer de leur conformité. La présence de *L. monocytogenes* dans ces aliments PAM identifie généralement un risque pour la santé de niveau 1 (les catégories de risque pour la santé sont définies à l'annexe A). La **catégorie 2** comporte deux (2) sous-groupes : 2A) Produits alimentaires PAM dans lesquels la prolifération de *L. monocytogenes* est limitée, ne dépassant pas 100 UFC/g, durant toute la durée de conservation prévue du produit en question (p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage); et 2B) Produits alimentaires PAM dans lesquels *L. monocytogenes* ne peut pas proliférer pendant toute la durée de conservation du produit en question (voir l'annexe A). En comparaison avec les aliments PAM de catégorie 1, les aliments PAM de la catégorie 2 devraient avoir une priorité plus basse autant pour l'industrie que pour les responsables de la réglementation.

Cette nouvelle version de la politique devrait conduire à une amélioration de la vérification et du contrôle de *Listeria* spp. dans l'environnement de la transformation des aliments, permettre l'identification précoce de toute contamination éventuelle persistante de l'environnement de l'usine et procurer une capacité accrue d'identification et de réduction de toute contamination des produits finis causée par *L. monocytogenes*. Ces mesures fourniront une alerte rapide et permettront d'amorcer les interventions appropriées pour assurer la protection des consommateurs.

## 2. Objectifs et Portée

La présente politique vise à protéger la santé des consommateurs canadiens et à offrir une orientation, à l'industrie et aux responsables de la réglementation, pour la vérification et le contrôle de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM. De plus, cette politique offre une orientation aux responsables de la réglementation sur les activités de surveillance et de conformité associées aux aliments PAM contaminés par *L. monocytogenes*. Une plus grande priorité est placée sur les aliments PAM dans lesquels *L. monocytogenes* peut se multiplier, étant donné que les connaissances actuelles indiquent que les risques de listériose augmentent dans les aliments PAM qui permettent la croissance de *L. monocytogenes* et qui ont une durée de conservation prolongée. La politique guide non seulement les autres organismes de réglementation (p. ex., l'Agence canadienne d'inspection des aliments et les gouvernements provinciaux/territoriaux) et les décideurs en matière de salubrité des aliments, mais également les transformateurs d'aliments PAM dans leurs activités de vérification qui visent à détecter la présence de *L. monocytogenes* à la fois dans l'environnement de l'usine et dans le produit fini. Outre ce qui est énuméré dans le présent document de politique, d'autres exigences réglementaires, pour des produits alimentaires particuliers, peuvent également s'appliquer (p. ex., Directives de l'hygiène des viandes (ACIA, 2009a) de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA)). Il est à noter que les renseignements contenus dans cette politique reposent sur l'état actuel des données scientifiques et que celles-ci évoluent.

### 3. Rôles et Responsabilités

Cette politique détaillée est le fruit d'un effort conjoint de Santé Canada (SC), de l'ACIA et de l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC). Elle tient compte des rôles et des responsabilités de l'industrie, du gouvernement et des consommateurs.

#### 3.1 Industrie

Il incombe à l'industrie de se conformer à toutes les exigences légales et réglementaires incluant les articles 4 et 7 de la *Loi sur les aliments et drogues* (Gouvernement du Canada, 2010a). Étant donné que *L. monocytogenes* peut être présente dans l'environnement des usines de transformation des aliments, les transformateurs d'aliments PAM devrait élaborer et mettre en œuvre un système efficace de BPF et/ou HACCP pour minimiser toute source possible de contamination des aliments, et ce, pour gérer la présence de *L. monocytogenes* dans l'environnement des usines de transformation des aliments. À cet égard, il ne faut pas négliger l'importance de l'assainissement. La gestion de l'assainissement peut donner lieu à des innovations sur le plan des interventions (p. ex., mesures correctives efficaces) et à des améliorations de la conception sanitaire (p. ex., équipement et installation). Les transformateurs d'aliments PAM devraient également envisager sérieusement la mise en place d'un ou de plusieurs contrôles validés dans leurs systèmes de salubrité des aliments pour éradiquer la présence de *L. monocytogenes* dans leurs produits (p. ex., utilisation d'un traitement de post-létalité). En outre, des plans d'échantillonnage environnementaux et de produits finis ainsi que l'utilisation d'analyses microbiologiques à titre d'outil de vérification pour confirmer l'efficacité des mesures de contrôle mises en place pour gérer la présence de *L. monocytogenes* sont recommandés. Chaque usine de transformation des aliments devrait prélever régulièrement des échantillons environnementaux dans l'usine (voir les figures 1, 2 et 3) pour vérifier l'efficacité de son programme d'assainissement pour contrôler *Listeria* spp. dans l'environnement de l'usine; les responsables des usines devraient accentuer les efforts déployés quant à l'assainissement et aux mesures de contrôle dans les secteurs où la présence de *Listeria* spp. a été démontrée.

#### 3.2 Gouvernement

Santé Canada élabore et établit les normes et les politiques en matière de salubrité des aliments pour minimiser les risques de maladies d'origine alimentaire. Santé Canada consulte l'ACIA et les gouvernements provinciaux/territoriaux à l'égard des éléments susmentionnés. Par ailleurs, les politiques de Santé Canada peuvent servir de base à l'élaboration de leurs propres documentations internes. L'ACIA et les gouvernements provinciaux/territoriaux ont le mandat de veiller à ce que l'industrie alimentaire assume ses responsabilités en matière de salubrité des aliments (Santé Canada, 2010a). L'ASPC fait la promotion et protège la santé des Canadiens par son leadership, ses partenariats, son innovation et ses interventions en matière de santé publique (ASPC, 2007). L'ASPC,

l'ACIA et Santé Canada collaborent étroitement avec les responsables de la santé publique et les ministères provinciaux/territoriaux de la santé pour enquêter sur la source de toute maladie causée par *Listeria monocytogenes*, dans toute situation d'éclosion présumée. L'ASPC a déjà commencé à jouer un rôle plus actif dans la surveillance des aliments à l'échelle du pays; p. ex., elle a orchestré C-EnterNet, une initiative de multipartenariat visant à déceler les changements dans les tendances concernant les maladies entériques humaines et les niveaux d'exposition aux agents pathogènes d'origine alimentaire, animale et hydrique au Canada (ASPC, 2009a). En outre, les trois ministères fédéraux fournissent des services de laboratoire de référence et effectuent des enquêtes sur la salubrité des aliments, des ARS et des interventions de rappel.

Il incombe également au gouvernement du Canada d'informer la collectivité médicale, les responsables de la santé publique, l'industrie alimentaire et les consommateurs relativement aux nombreuses questions liées à *L. monocytogenes* et à la listériose.

### 3.3 Consommateurs

Outre les organismes gouvernementaux et l'industrie de transformation des produits alimentaires qui travaillent avec diligence afin de minimiser l'exposition à *L. monocytogenes*, le consommateur a aussi un rôle important à jouer. Les Canadiennes et les Canadiens sont ainsi appelés à apprendre et à adopter des techniques de sélection, de manipulation et de préparation sécuritaires des aliments (Santé Canada, 2010a, Santé Canada, 2010b, Santé Canada 2010c, Santé Canada 2010d). Les traiteurs et les fournisseurs de soins aux personnes âgées et aux autres populations vulnérables ont un degré de responsabilité plus élevé à cet égard. À cette fin, Santé Canada, l'ACIA et l'ASPC (en plus d'autres organismes provinciaux/territoriaux) se sont engagés dans le passé (et continueront de le faire à l'avenir) à élaborer et à distribuer du matériel éducatif scientifique pour informer les consommateurs et les fournisseurs de soins sur, entre autres, les dangers associés à la présence de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM et les moyens de minimiser les risques de maladie d'origine alimentaire, en accordant une attention particulière aux populations vulnérables et à leurs familles, ainsi qu'à leurs fournisseurs de soins.

## 4. Contexte

*Listeria monocytogenes* est une bactérie pathogène très répandue dans la nature. On l'a isolée dans des échantillons de matières fécales d'animaux et d'êtres humains en bonne santé, ainsi que dans des eaux usées, des produits d'ensilage, de la terre, des engrais, des matières végétales et de nombreux aliments (Farber et Peterkin, 1991; Farber et Peterkin, 2000; McLauchlin et coll., 2004). Voici les caractéristiques importantes de ce micro-organisme : il peut se multiplier à des températures de -0,4 à 45 °C, à un pH de 4,4 ou supérieur et lorsque l'activité de l'eau ( $a_w$ ) est de 0,92 ou plus (ICMSF, 1996).



On estime que jusqu'à 5% de la population peut être porteuse de *L. monocytogenes* dans les intestins, sans ressentir d'effets de maladie. On sait toutefois que ce micro-organisme est l'agent responsable d'une infection appelée listériose. La listériose peut se manifester sous deux formes différentes, à savoir invasive et non invasive. La listériose invasive se développe habituellement chez des personnes immunodéprimées, alors que la listériose non invasive peut se développer dans tout groupe de population, à la suite de la consommation d'un nombre assez élevé de bactéries (p. ex.,  $>10^3$  UFC/g). Plusieurs modes de transmission sont connus : de la mère au fœtus *in utero*, de la mère à l'enfant à la naissance, d'un nourrisson à un autre, de l'animal à l'homme, sans oublier le plus important, la transmission aux humains par la consommation d'aliments contaminés (McLauchlin, 1993; McLauchlin et coll., 2004).

Les infections graves causées par *L. monocytogenes* (c.-à-d., listériose invasive) se manifestent par une septicémie et/ou une méningoencéphalite, et peuvent être mortelles. L'incidence de la listériose atteint un sommet chez les femmes enceintes, les personnes âgées (>60 ans) et les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Chez les personnes âgées, le risque augmente au fur et à mesure que la personne vieillit. Ainsi, comparativement aux personnes en santé âgées de 40 à 59 ans, les données canadiennes démontrent que le risque est quatre fois plus grand pour les personnes âgées de 65 à 69 ans, et presque neuf fois plus élevé pour les personnes âgées de 75 à 79 ans (ASPC, 2009b). L'infection est relativement rare chez les adultes en bonne santé. Même si les symptômes peuvent être relativement modérés chez la mère, le micro-organisme peut, par migration transplacentaire, provoquer une fausse couche, une mortinaissance, ou une septicémie périnatale et une méningite chez le nouveau-né. *Listeria monocytogenes* causera probablement plus de décès que toute autre bactérie mise en cause dans une maladie d'origine alimentaire, c.-à-d., de 20 à 30% des listérioses d'origine alimentaire chez les personnes très vulnérables peuvent être mortelles (Santé Canada, 2010a). De plus, une listériose peut avoir une incidence grave et/ou de longue durée sur la santé (Roberts et coll., 2009).

Plusieurs éclosions d'origine alimentaire ont été documentées partout dans le monde (voir l'annexe B). Les éclosions de listériose ont été attribuées à divers produits alimentaires PAM, dont les suivants : pâtés; langue de porc en gelée non acidifiée (c.-à-d., dans l'aspic); rillettes; saucisses hot-dog; certaines viandes froides de charcuterie; sandwichs roulés de poulet; fromage fabriqué à partir de lait cru ou pasteurisé; lait pasteurisé (y compris le lait au chocolat); beurre; gâteau à la crème glacée; crème à fouetter; salade de chou; salade de fruits; produits de la mer PAM, comme les moules fumées; gravlax (aussi appelé gravad) et truite fumée à froid; imitation de viande de crabe; crevettes; sandwichs préemballés; salades de riz et de maïs.

Au Canada, le taux national de listériose signalée a augmenté au cours des dernières années, passant de 2,3 cas par million d'habitants en 2000 à 4,2 cas par million d'habitants en 2007, c.-à-d., de 2000 à 2007 : 2,3, 2,9, 2,9, 3,4, 3,0, 3,3, 3,9 et 4,2 respectivement (ASPC, 2009c; Clark et coll., 2009). Une hausse abrupte du taux d'incidence a été observée en 2008 en raison de 7,2 cas signalés par million d'habitants (ASPC, 2009b). Cette augmentation est en grande partie attribuable à deux importantes éclosions concernant 57 et 38 cas confirmés (ASPC, 2009d; MSSS, 2009). La France, le Royaume-Uni et plusieurs autres pays européens ont également signalé des hausses du taux d'incidence de listériose au cours des dernières années. Dans ces pays, l'augmentation a surtout découlé d'une augmentation du taux d'incidence chez les patients

âgés de plus de 60 ans. Les motifs expliquant cette augmentation demeurent inconnus (Gillespie et coll., 2006; Goulet et coll., 2008; ACMSF, 2009).

### **5. Fondement scientifique des critères pour le contrôle de la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger**

Les aliments concernés dans les principales éclosions de listériose à l'échelle mondiale sont habituellement ceux dans lesquels *L. monocytogenes* est présent à des niveaux qui présentent un risque pour les consommateurs ou peut se multiplier pour atteindre ces niveaux (voir l'annexe B). En général, le risque de contracter une listériose d'origine alimentaire augmente en fonction de facteurs comme la susceptibilité de l'hôte; la quantité et la fréquence de consommation d'un aliment contaminé par *L. monocytogenes*; la fréquence, la distribution et la concentration de *L. monocytogenes* dans l'aliment; le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans l'aliment pendant l'entreposage réfrigéré; la température d'entreposage au réfrigérateur et/ou la durée de l'entreposage réfrigéré avant la consommation (FAO/OMS, 2004a). Par conséquent, la politique considère les concentrations de *L. monocytogenes* dans l'aliment et le potentiel de croissance de l'organisme dans un aliment précis, et ce, en fonction de facteurs comme le pH, l'activité de l'eau ( $a_w$ ), la présence d'agents de conservation<sup>4</sup> (voir l'annexe C) et les conditions d'entreposage (p. ex., température et durée de conservation).

Selon toute probabilité, les Canadiens consomment régulièrement des aliments contaminés par *L. monocytogenes*; cependant, le taux d'incidence de listériose demeure assez faible. Le taux d'incidence de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM varie de 0 à 10% (Farber et Peterkin, 2000; Gombas et coll., 2003; Ryser et Marth, 2007; Little et coll., 2009). Les résultats d'une vaste étude américaine démontrent que la prévalence de *L. monocytogenes* dans les produits PAM, comme les fruits de mer fumés, les viandes froides, les salades (de fruits de mer, de feuillus pré coupés en sac et celles préparées au comptoir de la charcuterie) et les fromages (frais à pâte molle, bleu persillé et affiné aux moisissures) varie de 0,17 à 4,7% (Gombas et coll., 2003). En outre, les résultats d'une récente étude réalisée au Royaume-Uni indiquent que la prévalence de *L. monocytogenes* dans les produits PAM, tels que les viandes en tranches, les fromages à pâte dure, les sandwiches, le beurre, le fromage à tartiner, les produits de confiserie contenant de la crème glacée et les boissons probiotiques, varie de 0 à 7,0% (Little et coll., 2009).

Un modèle défini de dose-effet pour *L. monocytogenes* chez les êtres humains n'a toujours pas été établi. Cependant, selon les données actuelles de cas recueillies à l'échelle mondiale, la probabilité qu'un aliment donné contaminé par un faible nombre de bactéries *L. monocytogenes* cause une maladie est considérée comme très faible (FAO/OMS, 2004b). Les aliments contenant une faible concentration de *L. monocytogenes* (p. ex., <100 UFC/g) posent très peu de risques (Chen et coll., 2003; FAO/OMS, 2004b). En fait, dans les situations où les aliments mis en cause

---

<sup>4</sup> Un agent de conservation prolonge la durée de conservation des aliments en le protégeant contre la détérioration causée par les micro-organismes ou l'oxydation. Un agent de conservation de catégorie II est considéré comme un agent antibactérien (Santé Canada, 2007).



dans des éclosions de listériose étaient toujours disponibles pour analyse, les concentrations de *L. monocytogenes* détectées tant dans les échantillons d'aliments scellés que dans les restes d'aliments obtenus de patients ont habituellement été élevées (c.-à-d.,  $>10^3$  UFC/g); ces éclosions sont donc le résultat d'échantillons non conformes (Direction générale de la santé et des consommateurs de l'Union européenne, 1999). Par conséquent, une priorité moindre devrait être accordée aux produits qui ne supportent pas la croissance de *L. monocytogenes* ou dans lesquels la croissance est limitée (autrement dit, si les concentrations sont demeurées inférieures ou égales à 100 UFC/g) durant toute la durée de conservation prévue (p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage) (voir le tableau 1).

Au niveau international, la Commission du *Codex Alimentarius* et la Commission des Communautés européennes ont proposé des critères microbiologiques semblables pour la vérification et le contrôle de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM, dans l'optique de protéger la santé des consommateurs, tout en assurant des pratiques équitables dans le commerce des aliments (Communautés européennes, 2007; CCA, 2009a). Aux États-Unis, une analyse des risques comportant une caractérisation des risques des aliments (FDA/FSIS, 2003) soutient également le fait que les aliments PAM diffèrent dans leur capacité de permettre la croissance et d'être liés à la listériose.

### **6. Critères de conformité pour le contrôle de la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger**

#### **6.1 Attribution d'une classification de risque pour les aliments prêts-à-manger, en fonction du risque pour le consommateur (Tableau 1 : catégories 1 et 2)**

##### **Aliments PAM de catégorie 1 :**

Les aliments PAM de catégorie 1 sont ceux qui peuvent permettre la croissance de *L. monocytogenes*. Tel qu'il est indiqué plus haut dans le texte, ces aliments devraient recevoir la plus haute priorité autant pour l'industrie qui devrait s'assurer d'en faire la vérification et d'en avoir la maîtrise que pour les responsables de la réglementation qui en font la surveillance afin de s'assurer de leur conformité. La présence de *L. monocytogenes* dans un aliment de catégorie 1 auquel un plan d'échantillonnage particulier et une analyse faite suivant la méthode recommandée ont été appliqués sera classée comme un risque pour la santé de niveau 1 (voir le tableau 1) : « Méthodes d'échantillonnage et critères de conformité pour le contrôle de la présence de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM ». Une alerte publique et un rappel seront probablement diffusés, si l'aliment n'est plus sous le contrôle du transformateur (l'annexe A décrit les risques pour la santé de niveau 1 et 2). Le produit concerné peut être considéré comme étant en violation des articles 4 et 7 de la *Loi sur les aliments et drogues* (Gouvernement du Canada, 2010a). Différentes mesures de gestion du risque peuvent être prises, si, dans le cadre de l'évaluation de salubrité, le transformateur de l'aliment est en mesure de présenter des données qui démontrent que la croissance de *L. monocytogenes* n'aura pas lieu dans le produit, par exemple à l'aide de l'utilisation validée d'agents de conservation, etc. Dans le cadre des

mesures de conformité dans ces situations, des arrangements pour une révision et une analyse par les autorités réglementaires peuvent être faits.

### **Aliments PAM de catégorie 2 :**

La catégorie 2 est subdivisée comme suit : 2A) Produits alimentaires PAM dans lesquels la prolifération de *L. monocytogenes* est limitée, c'est-à-dire, si les concentrations peuvent demeurer inférieures ou égales à 100 UFC/g, durant toute la durée de conservation prévue du produit en question (p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage); 2B) Produits alimentaires PAM dans lesquels *L. monocytogenes* ne peut pas proliférer pendant toute la durée de conservation du produit en question.

### **Aliments PAM de catégorie 2A :**

Cette sous-catégorie est destinée à inclure, par exemple, des aliments pouvant contenir, à l'occasion, de faibles concentrations de *L. monocytogenes* et ne comporter aucune étape de destruction et/ou des aliments PAM réfrigérés dont la durée de conservation est égale ou inférieure à cinq (5) jours. Cette dernière courte période (c'est-à-dire  $\leq 5$  jours) ne permettra pas, dans des conditions raisonnablement prévisibles de distribution, d'entreposage et d'utilisation, à l'organisme *L. monocytogenes* de se multiplier et d'atteindre des concentrations supérieures à 100 CFU/g durant toute la durée de conservation prévue de l'aliment en question (p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage). D'autres aliments ayant une durée de conservation supérieure à cinq (5) jours (p. ex., le saumon fumé à froid ainsi que les fruits et légumes fraîchement coupés), même s'ils sont fréquemment consommés, n'ont jamais été mis en cause dans de vastes épidémies documentées de listériose. Malgré que ces aliments puissent permettre la prolifération de *L. monocytogenes*, la croissance de l'organisme est généralement limitée, en raison d'un certain nombre de facteurs, notamment leur courte durée de conservation au réfrigérateur, l'importante microflore présente qui comprend, entre autres, des bactéries lactiques et/ou d'autres micro-organismes anti-*Listeria*, etc. En ce qui concerne les activités de surveillance et de conformité, on devrait accorder une priorité modérée à faible aux aliments de catégorie 2A. Les transformateurs de ces aliments devraient valider et vérifier leurs procédés afin de s'assurer que la concentration de *L. monocytogenes* est constamment égale ou en deçà de 100 UFC/g durant toute la durée de conservation de ces produits alimentaires. En général, les transformateurs d'aliments PAM devraient régulièrement contrôler leurs produits, afin de veiller à ce qu'ils continuent de respecter toujours les critères (p. ex., potentiel de prolifération de *L. monocytogenes* limité, c.-à-d., concentrations demeurant inférieures ou égales à 100 UFC/g durant toute la durée de conservation prévue du produit (p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage)), justifiant leur classification dans cette catégorie. Si l'information est insuffisante, inadéquate ou absente pour démontrer qu'il y a une prolifération de *L. monocytogenes* limitée (voir ci-haut) durant toute la durée de conservation du produit, suite à la présentation de données de validation, ce dernier sera considéré, par défaut, comme étant un aliment qui permet à *L. monocytogenes* de se multiplier (c.-à-d., catégorie 1). Par conséquent, le plan d'échantillonnage et la méthode

d'analyse pour les aliments de catégorie 1 (voir le tableau 1) seront appliqués. Si des questions sont soulevées, il est de la responsabilité du transformateur / importateur de démontrer dans quelle catégorie l'aliment PAM se classifie.

### **Aliments PAM de catégorie 2B :**

Étant donné que les aliments qui appartiennent à cette sous-catégorie ne permettent pas la prolifération de l'organisme *L. monocytogenes*, une faible priorité devrait leur être accordée, en ce qui concerne les activités de surveillance et de conformité. En règle générale, les transformateurs d'aliments PAM devraient contrôler leurs produits pour confirmer qu'ils continuent de satisfaire aux critères (p. ex., paramètres physico-chimiques tels que pH et  $a_w$ ) qui justifient leur classification dans cette sous-catégorie. Si l'information est insuffisante, inadéquate ou absente pour démontrer que *L. monocytogenes* ne peut pas proliférer durant toute la durée de conservation du produit, suite à la présentation de données de validation, ce dernier sera considéré, par défaut, comme étant un aliment qui permet à *L. monocytogenes* de se multiplier (c.-à-d. catégorie 1). Par conséquent, le plan d'échantillonnage et la méthode d'analyse pour les aliments de catégorie 1 (voir le tableau 1) seront appliqués. Si des questions sont soulevées, il est de la responsabilité du transformateur / importateur de démontrer dans quelle catégorie l'aliment PAM se classifie.

Certains aliments PAM congelés, autrement considérés comme des aliments de catégorie 2B, peuvent être assujettis à des abus de températures qui les décongèlent pouvant ainsi permettre la croissance de *L. monocytogenes*. De plus, certains produits alimentaires de catégorie 2 peuvent être utilisés pour la fabrication de produits alimentaires de catégorie 1 (p. ex., le poisson fumé congelé utilisé dans la préparation d'une mousse de saumon réfrigérée); ou, certains aliments PAM peuvent également être destinés à des personnes très vulnérables, p. ex., patients immunodéprimés, personnes âgées, femmes enceintes, etc. La présence de *L. monocytogenes* dans les aliments susmentionnés demande des activités de suivis; par conséquent, une ARS pourrait être exigée au cas par cas. Dans ces circonstances, celle-ci sera effectuée par le BDM, afin de déterminer la mesure de conformité à prendre. L'évaluation de ces aliments de catégorie 2 peut conclure que ceux-ci représentent une préoccupation de risque pour la santé de niveau 1.

### **Les aliments PAM dont la production est destinée aux groupes de population les plus vulnérables :**

Les aliments PAM dont la production est destinée aux individus reconnus comme étant les plus vulnérables (p. ex., la distribution finale de tels produits PAM est reconnue comme s'adressant spécifiquement aux femmes enceintes, aux personnes âgées et/ou aux personnes immunodéprimées) devraient recevoir le degré de priorité le plus élevé dans le cadre de la vérification et du contrôle de l'industrie, ainsi que pour toute surveillance réglementaire et activités de conformité. Ces aliments PAM pourraient être considérés comme représentant un risque pour la santé de niveau 1, et non 2, peu importe le type de produit (voir le tableau 1). De

plus, il peut s'avérer nécessaire de prendre des mesures de contrôle spécifiques à l'égard de ces produits (p. ex., dans le formulaire d'analyse des risques et de maîtrise des points critiques (c. -à-d., HACCP)).

### **6.2 Mise en application des critères pour les aliments prêts-à-manger canadiens, importés et exportés.**

#### **6.2.1. Usines canadiennes :**

##### **6.2.1.1. Contrôle environnemental**

L'importance relative de vérifier les contrôles de *Listeria* spp. dans l'environnement de l'usine de transformation varie en fonction du risque pour le consommateur, si l'aliment devient contaminé. Les inspecteurs des établissements canadiens devraient encourager l'observation des BPF et des principes HACCP. Si l'inspection révèle qu'une application inadéquate des pratiques de fabrication pourrait mener à la contamination post-létalité d'un aliment PAM, selon le cas, les transformateurs d'aliments PAM devront revoir leur programme de contrôle de *Listeria* spp sous la surveillance des responsables de la réglementation. Cet examen devrait tenir compte des résultats des analyses antérieures effectuées sur les échantillons environnementaux et de produits finis. Si l'examen indique que les *Listeria* spp. ne sont pas contrôlés, un échantillonnage environnemental plus poussé devrait être entrepris par le transformateur d'aliments PAM pour déterminer la présence de *Listeria* spp. Si des *Listeria* spp. sont présentes, cela devrait être considéré comme une preuve du besoin d'améliorer le contrôle de *Listeria* spp. De plus, si les échantillons de surfaces qui entrent en contact avec les aliments (SCA) se révèlent positifs à deux étapes (catégorie 1; voir figure 1) ou plus (catégories 2A et 2B; voir figure 2), l'analyse du produit fini devrait être mise en œuvre pour confirmer que le produit fini n'est pas contaminé par *L. monocytogenes*.

##### **6.2.1.2. Contrôle des produits**

La connaissance accrue de l'écologie de *L. monocytogenes* dans les produits alimentaires PAM a permis d'identifier les produits qui permettent ou non la croissance de *L. monocytogenes*. Ces connaissances ont permis de classer les aliments PAM qui requièrent des mesures de conformité particulières. La nature d'une préoccupation devrait être déterminée en fonction de l'information présentée au tableau 1. La priorité d'échantillonnage devrait être accordée aux produits PAM de catégorie 1. L'échantillonnage des produits alimentaires classés dans les sous-catégories 2A et 2B peut parfois être justifié, même si ces produits présentent une préoccupation moindre que celle des aliments PAM de catégorie 1. Les transformateurs d'aliments PAM, en consultation avec les responsables de la réglementation, devraient a) tenter de déterminer la source de la contamination (p. ex., analyse des causes fondamentales) à l'aide de mesures comme l'inspection, l'échantillonnage environnemental et l'analyse du produit fini, et b) prendre les mesures correctives qui s'imposent. Les mesures prises doivent refléter les conclusions de l'enquête effectuée, suite à l'obtention de résultats insatisfaisants. Ces mesures peuvent comprendre les interventions suivantes, sans s'y limiter : i) augmenter et/ou corriger les

## Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger

procédures d'assainissement (y compris le désassemblage de l'équipement au-delà des SCA avec des activités intensifiées de nettoyage/assainissement et la vérification des processus de nettoyage/assainissement ainsi que des activités intensifiées de nettoyage/assainissement de la périphérie) et modifier l'équipement afin d'améliorer la possibilité de le nettoyer; ii) observer les

BPF durant l'assainissement et les opérations afin d'assurer la conformité; iii) exiger des analyses minimales de suivi (figures 1, 2 et 3); iv) obtenir des données supplémentaires pour confirmer les hypothèses lorsqu'on effectue l'analyse des causes fondamentales; v) élaborer et mettre en application un plan d'échantillonnage rehaussé (pour la ligne de production mise en cause et possiblement le produit en question); et vi) selon le cas, passer en revue le système HACCP et le rajuster en conséquence, s'il y a lieu. Les mesures correctives doivent être surveillées pour en confirmer l'efficacité. L'ensemble du processus devrait être consigné, car ces renseignements peuvent être intégrés aux activités d'analyse des tendances de l'établissement.

### 6.2.2. Produits PAM importés :

Les importateurs d'aliments canadiens doivent importer des produits alimentaires qui sont conformes aux dispositions des lois et des politiques canadiennes pertinentes. L'importateur doit être en mesure de démontrer que les produits alimentaires sont salubres et qu'ils satisfont à toutes ces exigences. L'information relative aux produits importés, y compris les renseignements sur le fournisseur, le transformateur ou l'exportateur, est très utile et elle devrait servir de renseignements de contexte pour déterminer les activités de vérification nécessaires. De plus, l'importateur doit veiller à ce que les procédures d'entreposage et de manipulation en place dans ses installations soient acceptables et sécuritaires.

L'inspection des aliments PAM importés vise à assurer un niveau équivalent de protection pour les consommateurs, tant pour les produits importés que canadiens. Les organismes canadiens de réglementation des aliments peuvent toutefois ne pas être en mesure d'évaluer le respect de principes efficaces de BPF et/ou HACCP dans la fabrication de certains aliments importés. Par conséquent, d'autres mesures de vérification, telle que l'analyse du produit fini, peuvent être prises pour déterminer si le produit rencontre les critères du tableau 1. Si des échantillons sont prélevés, le plan d'échantillonnage approprié et la méthode d'analyse recommandée (voir le tableau 1) devraient être appliqués. Le produit importé sera considéré, par défaut, comme un aliment dans lequel *L. monocytogenes* peut se multiplier (c.-à-d., catégorie 1), si l'information sur la catégorisation 2A ou 2B du produit PAM importé est insuffisante, inadéquate ou absente (c.-à-d., aliment PAM dans lequel le potentiel de prolifération de *L. monocytogenes* est limité, soit à des concentrations demeurant inférieures ou égales à 100 UFC/g ou dans lequel *L. monocytogenes* ne peut pas proliférer durant toute la durée de conservation prévue du produit, suite à la présentation de données de validation ); le plan d'échantillonnage et la méthode d'analyse pour les aliments de catégorie 1 (voir le tableau 1) seront alors appliqués. Si des questions sont soulevées, il est de la responsabilité de l'importateur de démontrer dans quelle catégorie l'aliment PAM se classifie. Des mesures de conformité peuvent être prises pour tout lot qui dépasse les critères.

Des mesures de conformité doivent être prises au cas par cas pour tout lot, sans toutefois différer des mesures prises pour les produits canadiens. Les importateurs doivent mettre en place un système qui veille à ce que les responsables canadiens de la réglementation puissent différencier chaque lot individuel, selon un système d'identification clair du produit; faute de quoi, toute l'expédition sera considérée comme un seul lot, aux fins des mesures de surveillance et de conformité. Le plan d'échantillonnage devrait être ajusté en conséquence.

### 6.2.3. Produits PAM exportés :

Les exportateurs d'aliments canadiens doivent exporter des produits alimentaires qui satisfont aux exigences du pays destinataire ainsi qu'à l'article 37 de la *Loi sur les aliments et drogues* (Gouvernement du Canada, 2010a).

## 7. Réalisation de la conformité avec les critères établis pour les aliments prêts-à-manger

### 7.1 Exigences en matière de fabrication des produits alimentaires prêts-à-manger

La politique est fondée sur une combinaison de mesures de vérification et de contrôle de fabrication (par l'industrie), de surveillance (par les responsables de la réglementation), ainsi que d'échantillonnage environnemental et d'analyse du produit fini qui devraient être entrepris par l'industrie et les responsables de la réglementation.

Les transformateurs d'aliments PAM devraient mettre en œuvre des points de vérification et de contrôle adéquats qui veillent à ce que leurs produits soient conformes aux critères énoncés au tableau 1. Il est important de présumer que certains ingrédients bruts peuvent contenir *L. monocytogenes*. Les transformateurs d'aliments PAM devraient donc mettre en application, si possible, des procédures validées pour éliminer ou réduire la présence de *L. monocytogenes* dans les ingrédients bruts pour ainsi se conformer aux critères établis pour la présence de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM. La possibilité de re-contamination par *L. monocytogenes* devrait également être contrôlée. Celle-ci est influencée par des facteurs comme le plan de l'usine (y compris le contrôle de la circulation), l'infrastructure, la conception et l'entretien de l'équipement (p. ex., l'équipement qui nécessite d'être désassemblé, comme les trancheuses), l'efficacité des procédures d'assainissement et les pratiques adoptées par les employés (CCA, 2007; Industrie des viandes - Groupe de travail sur *Listeria monocytogenes*, 2010).

La survie de *L. monocytogenes* peut être gérée à l'aide des principes HACCP, dont l'utilisation de points de contrôle critiques validés (sigle anglais : CCP) et de procédures appropriées de surveillance et vérification pour chaque CCP. Les procédures de validation des étapes et des stratégies de réduction des pathogènes, comme l'utilisation d'additifs pour prévenir la croissance, sont utilisées depuis longtemps pour une variété de pathogènes d'origine alimentaire. La préoccupation de re-contamination est gérée par l'application de procédures de BPF, y compris de bonnes pratiques d'assainissement, qui nécessite une adhérence rigoureuse et régulière en raison de la prévalence de *L. monocytogenes* dans l'environnement, sa facilité de



dispersion et sa capacité de proliférer dans l'environnement de la transformation des produits alimentaires PAM (Industrie des viandes - Groupe de travail sur *Listeria monocytogenes*, 2010). Plusieurs publications sont disponibles pour information (Tompkin et coll., 1999; NFI/NFPA, 2002; CCA, 2007; Industrie des viandes - Groupe de travail sur *Listeria monocytogenes*, 2010). En plus, des ateliers organisés par les associations industrielles et commerciales peuvent être très efficaces pour enseigner les meilleures pratiques pour le contrôle de *Listeria* en vigueur dans des segments particuliers de l'industrie.

L'observation directe sur place est également utile pour les transformateurs d'aliments; il s'agit d'un moyen appréciable pour évaluer la conformité avec les BPF qui peuvent influencer la présence de *Listeria* spp. (CCA, 2007). Il est cependant impossible de prédire uniquement par observation directe sur place le degré auquel la présence de *Listeria* spp. peut survenir dans les secteurs où les aliments PAM sont exposés avant et pendant l'emballage final. Plusieurs usines de transformation des aliments n'ont pas été initialement conçues pour le contrôle des pathogènes qui possèdent les caractéristiques uniques de *L. monocytogenes*. Cependant, chaque usine de transformation des aliments devrait être exploitée en observant les pratiques exemplaires qui reconnaissent la nécessité de la vérification et du contrôle de la présence de *Listeria* spp. pour protéger le consommateur. Des modifications peuvent être fréquemment apportées pour le contrôle de la présence de *Listeria* spp. dans l'usine et pour réduire le risque de contamination des produits. Un programme efficace de surveillance environnementale, soutenu par un échantillonnage approfondi pour détecter les sources de *Listeria* spp., devrait être utilisé pour déterminer les changements qui faciliteront le contrôle nécessaire pour assurer la conformité avec les critères établis (tableau 1). L'expérience démontre que l'échantillonnage environnemental est l'outil le plus sensible/précis pour évaluer le contrôle de l'environnement de l'usine et le risque de contamination des produits (Tompkin et coll., 1992; Tompkin, 2002).

### 7.2 Échantillonnage environnemental (Figures 1, 2 et 3)

Les étapes d'échantillonnage des SCA et des aliments PAM (figures 1 et 2) ainsi que des SNCA (figure 3) que doivent suivre les transformateurs et les responsables de la réglementation sont décrites dans cette section. L'échantillonnage environnemental devrait être effectué conformément à la méthode MFLP-41 (Santé Canada, 2010e). Les analyses devraient être effectuées conformément à une méthode publiée dans le Compendium de méthodes de Santé Canada concernant *Listeria* dont la section « Application » correspond au but visé (p. ex., méthodes MFHPB et méthodes MFLP). L'importance relative de vérifier le contrôle de l'environnement de l'usine de transformation devrait refléter le risque de toute contamination d'aliments pour le consommateur. Les groupes les plus préoccupants sont les suivants : i) les aliments qui ne contiennent aucun inhibiteur de croissance validé pour *L. monocytogenes* (p. ex., lactate, diacétate); ii) les aliments dans lesquels la croissance de *L. monocytogenes* peut atteindre une concentration >100 UFC/g pendant la durée de conservation; iii) les aliments qui ne sont pas assujettis à un traitement contre *Listeria* dans leur emballage avant la distribution; et iv) les aliments destinés à des groupes de population les plus vulnérables. Les mêmes facteurs devraient être considérés pour établir la fréquence et l'étendue de l'échantillonnage

## Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger

environnemental. Plus particulièrement pour les aliments dans lesquels *L. monocytogenes* peut se multiplier pendant la durée de conservation du produit, les programmes de surveillance et contrôle devraient être suffisamment robustes (p. ex., relativement à la sélection des échantillons, la fréquence d'échantillonnage, le nombre d'échantillons, la méthode d'échantillonnage, etc.) pour permettre aux transformateurs d'aliments PAM et aux responsables de la réglementation de conclure, à la suite de l'examen des données, que les aliments produits ne sont pas contaminés par *L. monocytogenes* (CCA, 2007; Industrie des viandes - Groupe de travail sur *Listeria monocytogenes*, 2010).

Le programme de contrôle de la présence de *Listeria* de chaque établissement devrait être conçu de façon à refléter les connaissances et l'expérience actuelles du fait que *L. monocytogenes* peut être réduit à un niveau dans l'environnement qui permet d'éviter toute contamination du produit. Il demeure cependant possible que l'organisme *Listeria* soit introduit de nouveau dans les secteurs dans lesquels les aliments PAM sont exposés. Ces facteurs mettent l'accent sur le besoin de maintenir un programme adéquat d'échantillonnage environnemental afin de gérer le risque pour le consommateur par rapport aux catégories d'aliments PAM produits (tableau 1). Il est important de rechercher continuellement l'obtention de résultats négatifs en réagissant à chaque résultat positif en prenant des mesures correctives appropriées, et ce, sans tarder.

Les établissements qui transforment des aliments PAM devraient concevoir, mettre en application et maintenir un programme d'échantillonnage environnemental qui permet d'analyser les échantillons de SCA et de SNCA pour détecter la présence de *Listeria* spp. Il est conseillé de surveiller *Listeria* spp. dans l'environnement (voir les figures 1, 2 et 3). L'analyse de la présence de *Listeria* spp. et le fait de réagir aux résultats positifs obtenus comme si ces derniers avaient confirmé la détection de *L. monocytogenes* procurent un programme de vérification et de contrôle plus sensible et plus vaste que toute analyse portant uniquement sur la détection de *L. monocytogenes* (Industrie des viandes - Groupe de travail sur *Listeria monocytogenes*, 2010). Le programme d'échantillonnage environnemental vise à évaluer l'efficacité des pratiques d'assainissement et les autres BPF dans les usines de transformation des aliments PAM, ainsi que le potentiel de contamination des produits. De plus, le risque pour le consommateur peut être réduit en détectant ces bactéries et en réagissant à chaque résultat positif de façon responsable. Les programmes d'échantillonnage environnemental doivent comporter des prélèvements routiniers d'échantillons de SCA PAM, avant l'emballage final des aliments en question. Des échantillons d'éponge/d'écouvillons des surfaces d'équipement devraient être prélevés durant la production, habituellement après trois heures du début de l'exploitation. Des lignes directrices sur l'échantillonnage environnemental sont présentées dans le Compendium de méthodes de Santé Canada, sous MFLP-41 (Santé Canada, 2010e). Le nombre de sites échantillonnés (p. ex., de 1 à 10) varie en fonction de la complexité du système de transformation ou de la ligne d'emballage. La fréquence et les points d'échantillonnage courants devraient être spécifiques pour l'usine et/ou la ligne, selon les procédures de fabrication en vigueur et les contrôles en place (Tompkin et coll., 1992). Une augmentation du nombre de sites d'échantillons (SCA et SNCA) et leur fréquence devraient être considérées pendant et/ou après certaines circonstances spéciales (p. ex., construction, installation d'équipement usagé ou

modifié, fuites provenant du plafond dans des aires de produits exposées), qui peuvent mener à une perte de contrôle de la présence de *L. monocytogenes*.

Dans certaines situations, l'aliment à diverses étapes de transformation ou une accumulation de produits peuvent être utilisés à titre d'échantillons supplémentaires pour évaluer davantage la présence de *Listeria* le long d'une ligne ou d'un réseau de transformation. Des échantillons devraient également être prélevés sur des SNCA à titre de mesure additionnelle de vérification. Des publications récentes (CCA, 2007; Industrie des viandes - Groupe de travail sur *Listeria monocytogenes*, 2010) peuvent fournir une orientation sur la mise en place d'un programme d'échantillonnage environnemental.

L'échantillonnage approfondi diffère du programme d'échantillonnage environnemental de routine utilisé pour contrôler la présence de *Listeria*. Il comprend le prélèvement d'échantillons supplémentaires de certains sites pour contribuer à cibler plus clairement les sources de contamination. L'échantillonnage approfondi est un outil utile pour découvrir et éliminer les niches (Tompkin, 2002; CCA, 2007). Les avantages d'un échantillonnage environnemental pour les produits ayant subi un traitement anti-*Listeria* validé dans l'emballage sont influencés par le degré d'inactivation fourni par ce traitement, par exemple rosbif cuit dans l'emballage.

En général, selon Tompkin *et coll.*, (1999) ainsi que D'Amico et Donnelly (2008), la contamination des SNCA par *Listeria* spp., y compris *L. monocytogenes*, précède habituellement la contamination des SCA, soulignant par conséquent l'importance de la vérification et des contrôles environnementaux. Par conséquent, en tant que principes fondamentaux de contrôle de la présence de *Listeria*, la découverte de sources de contamination loin de la ligne de production et la prévention de la contamination croisée sont encouragées. Les lignes directrices décrites aux figures 1, 2 et 3 devraient être suivies.

Selon le plan d'échantillonnage mis en œuvre (c.-à-d., le nombre d'analyses effectuées et les endroits où elles le sont ainsi que le nombre de résultats positifs et la fréquence à laquelle on les obtient), la présence de *L. monocytogenes* dans un aliment PAM indiquera (c.-à-d., dans les produits PAM de catégorie 1) ou indiquerait (c.-à-d. dans les produits PAM de catégorie 2) probablement que le programme de contrôle de l'établissement n'est pas adéquat pour prévenir la contamination du produit. Lors de l'examen des données d'analyse des tendances, la contamination des SNCA par *Listeria* spp. dans des secteurs de l'usine où les aliments PAM sont exposés à une contamination post-létalité, selon le cas, cela peut être une indication que le contrôle est inadéquat. Il incombe aux transformateurs d'aliments PAM de réagir sans tarder à tout résultat environnemental insatisfaisant et, ultimement, à obtenir des résultats négatifs pour *Listeria*. La présence de *Listeria* spp. dans l'environnement de l'usine de transformation d'aliments PAM devrait déclencher des mesures de suivi, p. ex., mesures correctives qui comprennent des activités intensifiées de nettoyage et d'assainissement, répétition sans tarder des analyses du secteur contaminé, analyse des produits finis qui ont possiblement été en contact avec la SCA positive, examen approfondi du système de salubrité des aliments de l'usine, etc., s'il y a lieu.

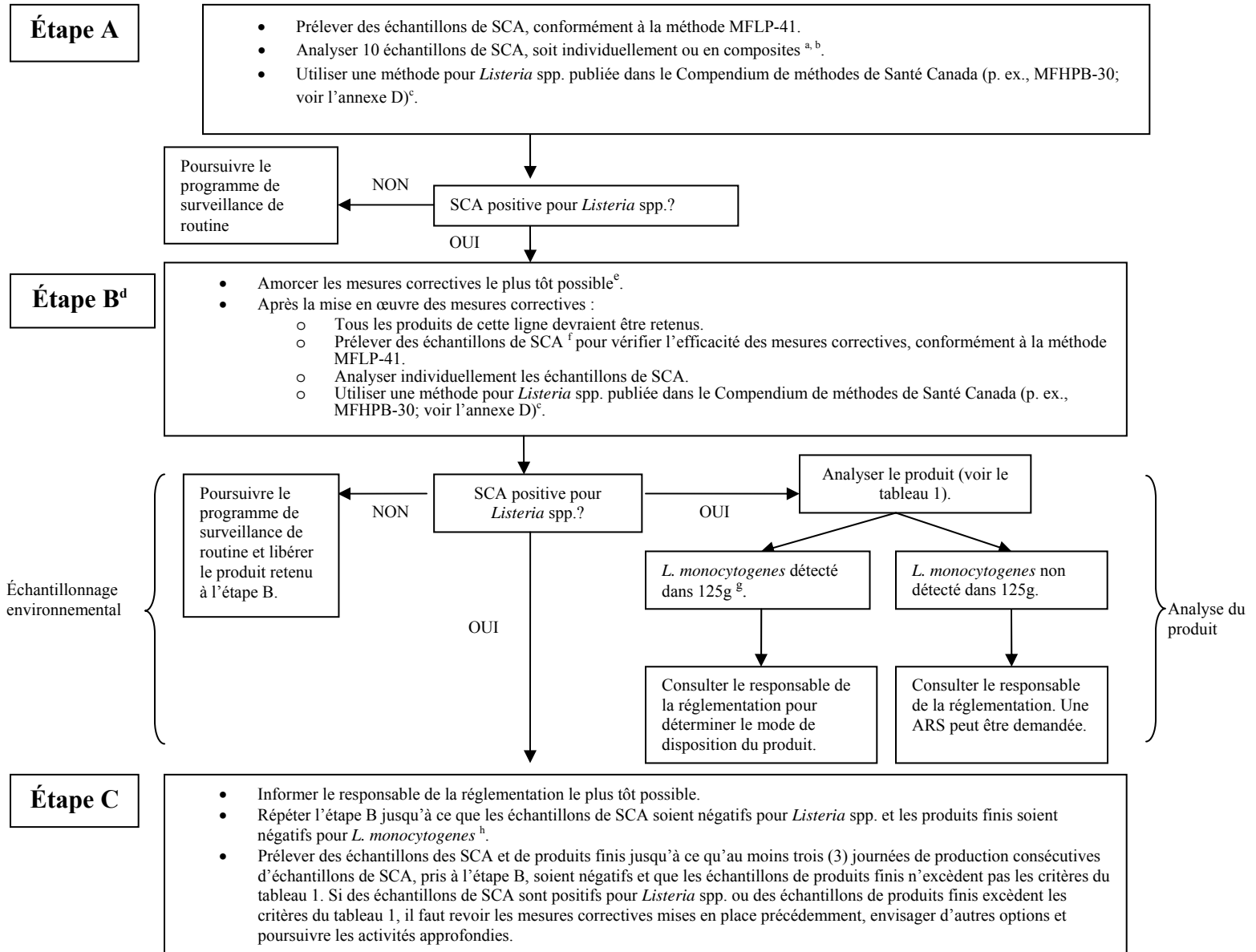
## Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger

Si au moins deux (2) échantillons de la même ligne de production (c.-à-d., utilisant le même équipement) donnent des résultats positifs à l'intérieur d'une courte période, ces résultats sont considérés comme une confirmation de contamination persistante. Ils indiquent aussi que le programme de contrôle de *Listeria* est possiblement inadéquat. La contamination persistante des SCA par tout *Listeria* spp. dans l'environnement de l'usine de production d'aliments PAM peut être révélatrice de pratiques de fabrication et d'assainissement inadéquates. Des mesures de suivi acceptables s'imposent en présence de résultats insatisfaisants, en tenant compte du type et/ou de l'emplacement des sites échantillonnés, ainsi que de la catégorie d'aliment (voir les figures 1, 2 et 3).

Tout résultat positif pour *L. monocytogenes* dans un aliment PAM ou *Listeria* spp. persistant sur une SCA doit être communiqué le plus tôt possible au responsable de la réglementation ayant juridiction, conformément aux figures 1 et 2.

# Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger

**Figure 1 : Lignes directrices sur l'échantillonnage des surfaces qui entrent en contact avec les aliments (SCA) et des aliments PAM de catégorie 1**



## Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger

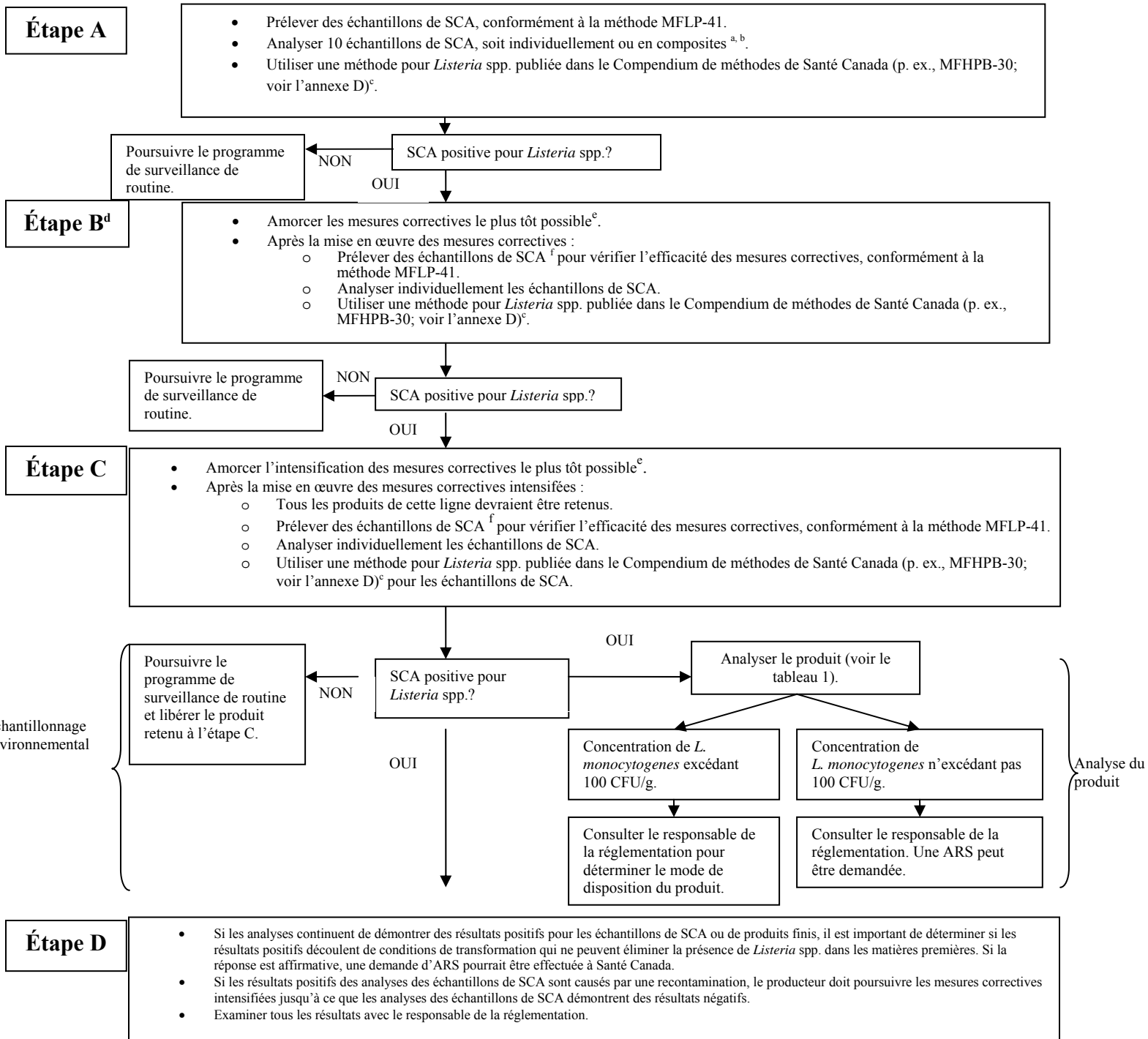
- a Le nombre de sites d'échantillonnage significatifs (préférentiellement 10) choisis sur chaque ligne de transformation devrait dépendre de la complexité des lignes.
- b Si le nombre de sites en composites de SCA est supérieur à 10, un protocole devrait être élaboré et validé. Le nombre d'échantillons et le protocole d'enrichissement peuvent varier en fonction des conditions de transformation.
- c De plus, la section « Application » doit correspondre au but visé (p. ex., méthodes MFHPB et MFLP).
- d Toute activité qui va au-delà de l'étape A devrait être consignée et conservée dans un dossier distinct de celui qui renferme les données du programme de surveillance de routine, en plus de comprendre l'information sur les mesures correctives, l'échantillonnage approfondi, l'analyse du produit et le mode de disposition du produit.
- e L'échantillonnage approfondi peut être utile afin de cibler et de corriger les sources de contamination, particulièrement si des niches existent dans l'équipement et entraînent une isolation de *Listeria* spp. ou d'une souche particulière de *L. monocytogenes* (CCA, 2007).
- f Il est important d'inclure tout au moins les SCA du programme de contrôle routinier. L'échantillonnage devrait comporter un nombre approprié de prélèvements effectués sur plusieurs SCA pour confirmer que toute la ligne de production est négative et sous contrôle.
- g Il est conseillé de retenir les lots subséquents du produit mis en cause. Si *L. monocytogenes* est détecté dans/sur un produit à l'étape B, tous les lots subséquents du produit en question devraient être analysés.
- h Après avoir mis en application les mesures correctives à l'étape C, il est conseillé de retenir chaque lot de produit et d'analyser les échantillons de lot jusqu'à ce que les résultats confirment que les produits sont sous contrôle.

Note 1 : La présente politique précise les exigences minimales à respecter. Le producteur ou le responsable de la réglementation peut adopter des exigences plus rigoureuses.

Note 2 : Il faut effectuer des analyses des produits finis visant à détecter la présence de *L. monocytogenes* si l'on détecte la présence de *L. monocytogenes* sur des SCA.



Figure 2 : Lignes directrices sur l'échantillonnage des surfaces qui entrent en contact avec les aliments (SCA) et des aliments PAM de catégorie 2



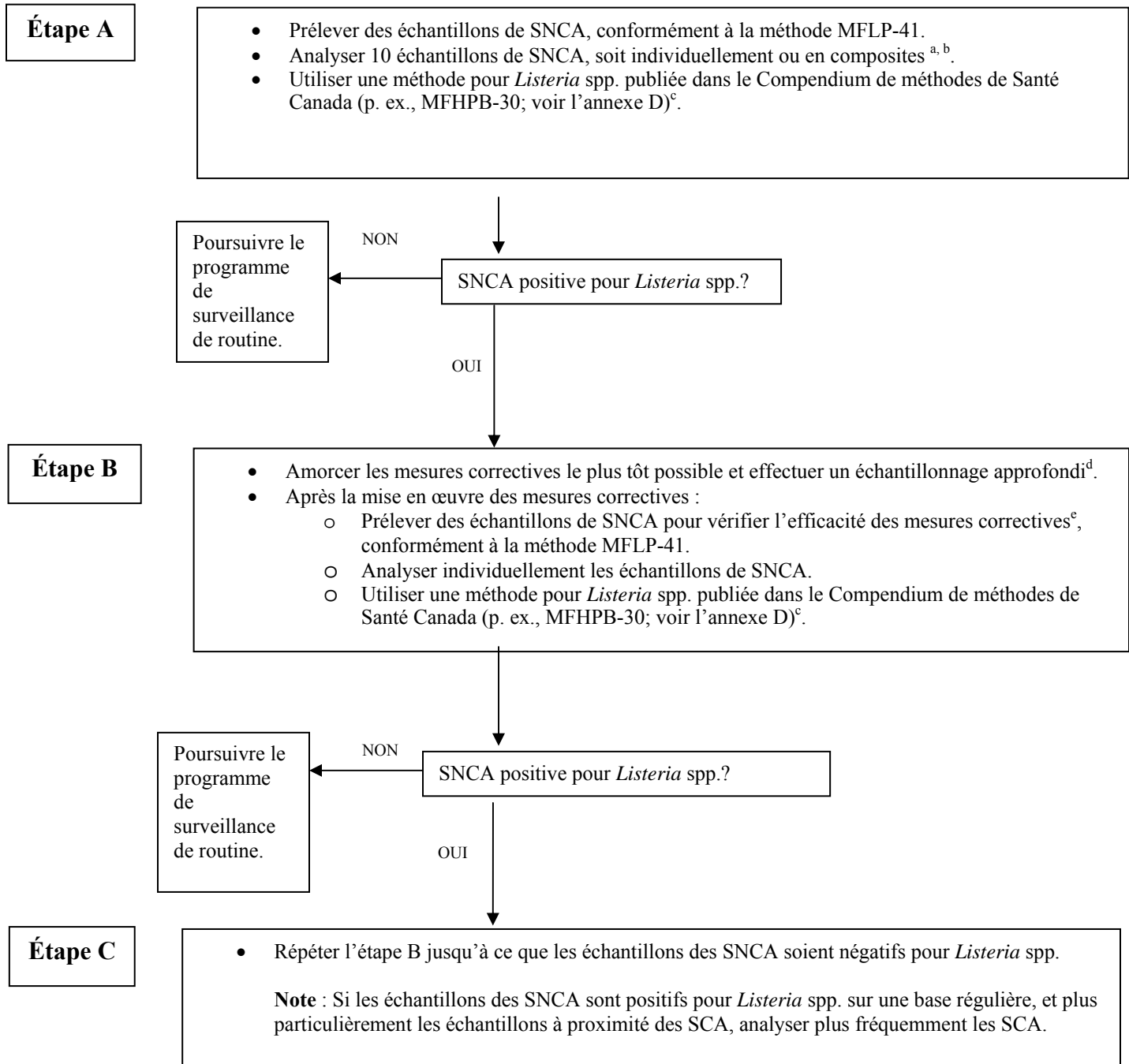
## Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger

- a Le nombre de sites d'échantillonnage significatifs (préférentiellement 10) choisis sur chaque ligne de transformation devrait dépendre de la complexité des lignes.
- b Si le nombre de sites en composites de SCA est supérieur à 10, un protocole devrait être élaboré et validé. Le nombre d'échantillons et le protocole d'enrichissement peuvent varier en fonction des conditions de transformation.
- c De plus, la section « Application » doit correspondre au but visé (p. ex., méthodes MFHPB et MFLP).
- d Toute activité qui va au-delà de l'étape A devrait être consignée et conservée dans un dossier distinct de celui qui renferme les données du programme de surveillance de routine, en plus de comprendre l'information sur les mesures correctives, l'échantillonnage approfondi, l'analyse du produit et le mode de disposition du produit.
- e L'échantillonnage approfondi peut être utile afin de cibler et de corriger les sources de contamination, particulièrement si des niches existent dans l'équipement et entraînent une isolation de *Listeria* spp. ou d'une souche particulière de *L. monocytogenes* (CCA, 2007).
- f Il est important d'inclure au tout moins les SCA du programme de contrôle routinier. L'échantillonnage devrait comporter un nombre approprié de prélèvements effectués sur plusieurs SCA pour confirmer que toute la ligne de production est négative et sous contrôle.

Note 1 : La présente politique précise les exigences minimales à respecter. Le producteur ou le responsable de la réglementation peut adopter des exigences plus rigoureuses.

Note 2 : Il faut effectuer des analyses des produits finis visant à détecter la présence de *L. monocytogenes* si l'on détecte la présence de *L. monocytogenes* sur des SCA.

Figure 3 : Lignes directrices sur l'échantillonnage des surfaces qui n'entrent pas en contact avec les aliments (SNCA), et plus particulièrement les échantillons à proximité des SCA, liés aux aliments PAM des catégories 1 et 2



## Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger

- a Le nombre de sites d'échantillonnage significatifs (préférentiellement 10) choisis dans l'usine devrait dépendre de la complexité de l'usine.
- b Si le nombre de sites en composites de SNCA est supérieur à 10, un protocole devrait être élaboré et validé. Le nombre d'échantillons et le protocole d'enrichissement peuvent varier en fonction des conditions de transformation.
- c De plus, la section « Application » doit correspondre au but visé (p. ex., méthodes MFHPB et MFLP).
- d L'échantillonnage approfondi contribuera à cibler et à corriger les sources de contamination. Par exemple, les activités d'assainissement en vigueur sont peut être inefficaces et une niche peut être présente. Cela peut-être conclu à la suite de l'isolement d'un sous-type particulier de *L. monocytogenes* (CCA, 2007).
- e Il est important de préciser qu'après avoir mis en application les mesures correctives, il ne faut pas nécessairement se limiter aux mêmes sites d'échantillonnage. Au moment du ré-échantillonnage, le site original ou un site avoisinant pourrait être négatif, mais l'échantillonnage d'autres sites pourrait révéler des résultats positifs, par conséquent, plus profitable pour résoudre le problème.

### 7.3 Échantillonnage et analyse des produits finis d'aliments prêts-à-manger

Pour la majorité des produits PAM, l'approche la plus souhaitable pour vérifier et contrôler la présence de *L. monocytogenes* repose sur le contrôle (c.-à-d., assainissement adéquat et BPF) et la vérification de l'environnement (c.-à-d., à l'aide d'un programme acceptable d'échantillonnage environnemental). Par conséquent, une meilleure décision pourra être prise relativement à la mise en marché des produits finis, au lieu de se fier uniquement à l'analyse individuelle des lots. En fait, l'analyse microbiologique des aliments est une science imprécise et pourrait ne pas traduire la véritable condition microbiologique de l'aliment. Par conséquent, dans le cas de bien des aliments, l'importance relative de l'analyse du produit fini est moindre que celle de l'analyse environnementale. Cependant, l'analyse du produit fini est effectuée pour diverses raisons, entre autres, les exigences des clients, l'évaluation de la contamination du produit lorsque les SCA sont positives pour *Listeria* spp. (tel que stipulé dans les figures 1 et 2), l'analyse périodique pour déterminer l'efficacité du contrôle des procédures/BPF, les exigences des pays étrangers, les analyses réglementaires, la vérification de l'efficacité des traitements antimicrobiens, l'analyse des produits entrants, les analyses des produits commercialisés lors des enquêtes et des analyses des tendances, etc. Lors de l'analyse des produits finis, les transformateurs d'aliments PAM devraient élaborer :

- a) Des procédures écrites sur l'analyse des produits finis qui comprennent des précisions sur toute procédure de retenue et d'analyse.
- b) Des procédures d'échantillonnage.
- c) La fréquence d'échantillonnage et le nombre d'échantillons.
- d) La méthodologie.
- e) Les mesures de suivi proposées.

Il est recommandé de retenir tout produit fini mis en cause en attendant les résultats des analyses de routine (voir le tableau 1 – « Méthodes d'échantillonnage et critères de conformité pour le contrôle de la présence de *L. monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger »). Il faut effectuer une analyse du produit fini visant à détecter la présence de *L. monocytogenes* si l'on détecte la présence de *L. monocytogenes* sur des SCA.

L'échantillonnage de tous les produits alimentaires PAM finis soumis pour fin d'analyse dans le but de détecter *L. monocytogenes* comportera cinq (5) unités d'échantillonnage d'une quantité minimale de 100 g chacun (voir le tableau 1) qui sont représentatives du lot en question, des conditions de production et ont été prélevées de manière aléatoire de chaque lot. Les échantillons de produits importés, et plus particulièrement les importantes expéditions, devraient correspondre à des lots identifiables du produit. Si l'importateur n'est pas en mesure de fournir l'information sur l'identité des différents lots, l'ensemble de l'expédition (p. ex., par type de produit) sera alors traitée comme un seul lot.

#### Aliments PAM de catégorie 1 :

L'analyse des aliments PAM de catégorie 1 pour détecter la présence de *L. monocytogenes* devrait être effectuée à l'aide d'une méthode publiée dans le Compendium de méthodes de Santé

Canada concernant *L. monocytogenes* et dans lequel la section « Application » correspond au but visé (p. ex., méthodes MFHPB et méthodes MFLP). Cinq unités d'analyse de 25 g (c.-à-d., 5 X 25g) pour cette catégorie spécifique de produits PAM devraient être utilisées pour l'analyse de routine du produit fini. La détection de *L. monocytogenes* dans un aliment PAM fini de catégorie 1 exige des mesures de suivi telles que celles décrites à l'étape C (voir la figure 1).

### **Aliments PAM de catégorie 2A et 2B :**

Pour ce qui est de l'analyse de tous les aliments PAM de catégorie 2, une analyse quantitative devrait être effectuée, par exemple, conformément à la procédure de laboratoire (MFLP) 74 (voir l'annexe E) ou une toute autre méthode publiée dans le Compendium de méthodes de Santé Canada concernant *L. monocytogenes* et dans lequel la section « Application » correspond au but visé (p. ex., méthodes MFHPB et méthodes MFLP). Cinq unités d'analyse de 10 g (c.-à-d., 5 X 10g) pour cette catégorie spécifique de produits PAM devraient être utilisées pour l'analyse de routine du produit fini, et ce, pour déterminer le nombre de UFC/g de *L. monocytogenes* dans l'aliment, au-delà du niveau d'intervention (c.-à-d., 100 UFC/g). La détection de *L. monocytogenes* dans un aliment PAM fini de catégorie 2 exige des mesures de suivi telles que celles décrites aux étapes C et D (voir la figure 2). La présence fréquente (c.-à-d., survenant à répétition à de brefs intervalles) de faibles concentrations ( $\leq 100$  UFC/g) de *L. monocytogenes* dans un produit peut indiquer une application inadéquate des BPF et/ou l'incapacité d'un procédé d'assurer des concentrations non décelables de *L. monocytogenes*.

### **Mesures de suivi :**

Le responsable concerné de la réglementation devrait être informé de tout résultat positif pour un produit fini; de plus, des mesures de suivi devraient être mises en application pour veiller à ce que le transformateur d'aliments PAM reprenne le contrôle de la situation (c.-à-d., comprenant tous les produits finis PAM mis en cause). Il est fortement recommandé que des mesures correctives soient prises par la compagnie et/ou les responsables de la réglementation, comme l'examen de la stratégie de contrôle de *Listeria*, y compris les BPF, l'intensification des activités de nettoyage et d'assainissement, des analyses supplémentaires sur les échantillons environnementaux et les produits finis.



**Tableau 1 : Méthodes d'échantillonnage et critères de conformité pour le contrôle de la présence de *L. monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger (PAM)<sup>a</sup>**

Catégories	Échantillonnage	Analyse	Type d'analyse	Niveau d'intervention pour <i>L. monocytogenes</i>	Nature de la préoccupation	Niveau de priorité pour la surveillance <sup>b</sup>
1. Aliments PAM dans lesquels <i>L. monocytogenes</i> peut se multiplier <sup>c</sup> durant toute la durée prévue de conservation, p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage (p. ex. <sup>d</sup> , viandes froides de charcuterie, fromages à pâte molle, saucisses hot dog, pâtés).	5 unités d'échantillonnage (au moins 100 g ou ml chacun) représentatives du lot et des conditions d'exploitation, extraites aléatoirement et aseptiquement de chaque lot	5 x 25 g unités d'analyse <sup>e</sup> sont analysées individuellement ou en composites	Enrichissement seulement	Déecté dans 125 g <sup>f, g</sup>	Risque pour la santé de niveau 1 <sup>h</sup>	Élevé
2A) Aliments PAM dans lesquels le <b>potentiel de prolifération</b> <sup>c</sup> de <i>L. monocytogenes</i> est limité, c'est-à-dire, si les concentrations demeurent inférieures ou égales à 100 UFC/g, durant toute la durée de conservation prévue du produit (p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage). Un certain nombre de facteurs seront considérés relativement aux aliments qui peuvent appartenir à cette catégorie (voir la section 6.1). Ces aliments peuvent comprendre, entre autres, la truite arc-en-ciel et le saumon fumés à froid/gravlax réfrigérés, les fruits et légumes fraîchement coupés, etc.	Même que ci-dessus	5 x 10 g unités d'analyse <sup>e</sup>	Ensemencement direct sur milieu gélosé seulement	> 100 UFC/g <sup>j, k, l</sup>	Risque pour la santé de niveau 2 <sup>h, l</sup>	Moyen à faible
2B) Aliments PAM dans lesquels <i>L. monocytogenes</i> ne <b>peut pas proliférer</b> <sup>i</sup> durant toute la durée de conservation prévue, p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage (p. ex., la crème glacée, le fromage à pâte dure, le salami sec, le poisson salé à sec, des variétés de prosciutto).						Faible

## Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger

- a** – L'annexe A présente une définition de l'expression «Aliments PAM».
- b** D'autres critères (p. ex., transformation, emballage, données sur l'éclosion) pourraient également avoir une incidence sur le niveau de priorité attribué aux produits alimentaires PAM.
- c** – L'annexe A présente une définition de l'expression «Aliments PAM qui permettent à *L. monocytogenes* de se multiplier».
- d**- Ces exemples traditionnels d'aliments de catégorie 1 peuvent appartenir à la catégorie 2A ou 2B, s'il est démontré qu'ils ne permettent pas la prolifération ou permettent la prolifération limitée de *L. monocytogenes* à des concentrations inférieures ou égales à 100 UFC/g durant toute la durée prévue de conservation (p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage).
- e** – L'unité d'analyse désignée est extraite de chaque unité d'échantillonnage.
- f**- Par exemple, MFHPB-30; présence ou absence par enrichissement seulement (voir l'annexe D), ou utilisation d'une méthode d'enrichissement pour *L. monocytogenes* publiée dans le Compendium de méthodes de Santé Canada dont la section « Application » correspond au but visé (p. ex., méthodes MFHPB et MFLP).
- g** – En présumant une distribution logarithmique normale, ce plan d'échantillonnage produira un niveau de confiance de 95% pour la détection et le rejet d'un lot d'aliment contenant une concentration moyenne de 0,023 UFC/g et un écart type de 0,25 UFC/g, si l'un des cinq échantillons testait positif au *L. monocytogenes* (CCA, 2009a).
- h** – L'annexe A présente une définition des catégories de risque pour la santé.
- i** – L'annexe A présente une définition complète de l'expression «Aliments PAM qui ne permettent pas à *L. monocytogenes* de se multiplier»
- Un aliment PAM dans lequel *L. monocytogenes* NE se multipliera PAS (CCA, 2009a) comprend les éléments suivants :

- (a) pH < 4,4, peu importe l' $a_w$
- (b)  $a_w$  < 0,92, peu importe le pH
- (c) Combinaisons de facteurs (p. ex., pH < 5,0 et  $a_w$  < 0,94)
- (d) Aliments congelés

Le pH et l' $a_w$  devraient être déterminés pour au moins trois des cinq unités d'analyse. La croissance de *L. monocytogenes* est présumée survenir, si une des unités ne cadre pas dans la gamme des valeurs de pH et d' $a_w$  dans lesquelles *L. monocytogenes* ne se multipliera pas (voir plus haut dans le texte).

- j**- Par exemple, MFLP-74; dénombrement effectué par ensemencement direct sur milieu gélosé sélectif (voir l'annexe E), ou utilisation d'une méthode de dénombrement pour *L. monocytogenes* publiée dans le Compendium de méthodes de Santé Canada dont la section « Application » correspond au but visé (p. ex., méthodes MFHPB et MFLP).
- k** – En présumant une distribution logarithmique normale, ce plan d'échantillonnage produira un niveau de confiance de 95% pour la détection et le rejet d'un lot d'aliment contenant une concentration moyenne de 93,3 UFC/g et un écart type de 0,25 UFC/g, si l'un des cinq échantillons dépassait 100 UFC/g de *L. monocytogenes* (CCA, 2009a).
- l** – Une préoccupation de risque pour la santé de niveau 1 est démontrée si la production d'un aliment PAM est destinée à un groupe de population très vulnérable, notamment les personnes âgées, les femmes enceintes ou les personnes immunodéprimées (p. ex., patients souffrant du sida, sujets receveurs de greffe d'organe, patients souffrant d'un cancer, etc.) ou si le produit est utilisé pour la fabrication d'un produit alimentaire de catégorie 1. De plus, si des résultats inférieurs ou égaux à 100 UFC/g sont détectés dans les aliments PAM dont la production est destinée aux groupes de population très vulnérables tels que ceux susmentionnés, une ARS pourrait être exigée, ce qui risquerait de susciter des préoccupations plus élevées à l'égard du risque pour la santé.

Note : Si l'information sur la catégorisation 2A ou 2B du produit PAM est insuffisante, inadéquate ou absente (c.-à-d., aliment PAM canadien ou importé dans lequel le potentiel de prolifération de *L. monocytogenes* est limité, soit à des concentrations demeurant inférieures ou égales à 100 UFC/g ou dans lequel *L. monocytogenes* ne peut pas proliférer durant toute la durée de conservation prévue du produit, suite à la présentation de données de validation), ce produit sera considéré, par défaut, comme étant un aliment qui permet à *L. monocytogenes* de se multiplier (c.-à-d., catégorie 1). Par conséquent, le plan d'échantillonnage et la méthode d'analyse pour les aliments de catégorie 1 (voir le tableau 1) seront appliqués. Si des questions sont soulevées, il est de la responsabilité du transformateur / importateur de démontrer dans quelle catégorie l'aliment PAM se classifie.

#### 7.4 Importance de l'analyse des tendances et des outils d'assurance de la qualité

Un établissement ne peut se fier uniquement sur l'analyse du produit fini pour vérifier et contrôler la présence de *Listeria*. Son système de gestion de la salubrité des aliments devrait comporter des outils modernes de contrôle de la qualité et des méthodes statistiques pour surveiller ses procédures et détecter des profils (tendances) temporels et/ou spatiaux qui donnent à penser qu'il y a des sources de contamination qui peuvent faire l'objet d'une enquête plus approfondie et qui peuvent être atténuées. En outre, ces tendances (données) peuvent être amplement utilisées pour modéliser et prédire le risque de façon à mieux cibler la supervision et les activités de conformité. Dans la mesure du possible, le contrôle de la qualité et les méthodes statistiques devraient comprendre des techniques modernes telles que des graphiques de contrôle et des courbes de Pareto, etc., ainsi que des méthodes statistiques descriptives et analytiques appropriées. Toutes les données et résultats d'analyse devraient être fournies au personnel de l'établissement qui est responsable de la gestion du programme de contrôle de la présence de *Listeria*. La responsabilité de mettre à jour et de diffuser les données devrait être confiée à un ou plusieurs employés de l'établissement (p. ex., coordonnateurs de l'assurance de la qualité, de la salubrité des aliments et/ou du système HACCP). Une analyse et un examen continus des données sur *Listeria* spp. recueillies dans le cadre des programmes routiniers de surveillance devraient être effectués pour découvrir les tendances, avant la manifestation de problèmes majeurs. Ce genre d'examen fournit des renseignements sur la prévalence de *Listeria* spp. et ses fluctuations au fil du temps, en plus de cibler les problèmes à corriger de manière adéquate et sans tarder. Une attention particulière devrait être portée aux dates et aux sites qui ont démontré des résultats d'échantillons positifs pour déterminer si des résultats positifs à concentrations faibles et/ou sporadiques surviennent dans certains endroits sans avoir attiré l'attention auparavant (CCA, 2007). L'analyse des tendances devrait être utilisée pour obtenir un contrôle amélioré au fil du temps, au fur et à mesure que chaque établissement acquiert de l'expérience dans son contrôle de la présence de *Listeria* et apporte les ajustements appropriés.

#### 8. Développement de matériel éducatif à l'intention des consommateurs et de toute autre personne concernée par la manipulation et la préparation des aliments

La création de matériel éducatif vise à éduquer, à informer et à mieux faire comprendre les dangers associés aux aliments PAM pour les consommateurs en général, et plus particulièrement pour les personnes âgées et le personnel qui leur fournit des soins, les femmes enceintes, les patients immunodéprimés et toute autre personne à risque élevé, sur les pratiques sécuritaires de manipulation des aliments et sur ce qui peut être fait pour réduire le risque de contracter une listériose d'origine alimentaire. Même si divers ordres de gouvernement ont déjà produit beaucoup de renseignements, l'étroite collaboration entre les gouvernements fédéral, provinciaux/territoriaux et municipaux garantira que les consommateurs reçoivent de l'information fiable et uniforme qui leur permettra de faire des choix éclairés et/ou d'apprendre comment manipuler et préparer convenablement les aliments. À cette fin, Santé Canada recherchera la collaboration de l'ASPC, de l'ACIA et des provinces/territoires pour l'exécution d'éventuels travaux dans ce domaine.

**8.1. Contributions des scientifiques de Santé Canada à la publication de renseignements sur la listériose d'origine alimentaire**

- Clark, C.G., Farber, J.M., Pagotto, F., Ciampa, N., Doré, K., Nadon, C., Bernard, K., Ng, L.-K. et le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada. (2010). Surveillance for *Listeria monocytogenes* and listeriosis in Canada, 1995-2004. *Epidemiol. Infect.*, vol. 138, p. 559-572.
- Farber, J.M., Pagotto, F. et C. Scherf. (2007). Incidence et behaviour of *Listeria monocytogenes* in meat products. Dans : *Listeria, Listeriosis et Food Safety*. Ryser E. T. et Marth E. H. (éditeurs), 3<sup>e</sup> édition, CRC Press, p. 503-570.
- Pagotto, F. Corneau, N. et J.M. Farber. (2006). *Listeria monocytogenes* infections. Dans : *Foodborne Infections et Intoxications*. Riemann, H.P. et Cliver, D.O. (éditeurs), 3<sup>e</sup> édition, Academic Press, p. 313-340.
- Pagotto, F., King, L-K, Clark, C. Farber, J.M. et le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada. (2006). Service de référence pour la listériose au Canada. *Foodborne Pathog. Dis.*, vol. 3, p. 132-137.
- Groupe d'experts de l'IISV. (2005). Achieving continuous improvement in reductions in foodborne listeriosis – a risk based approach. *J. Food Prot.*, vol. 68, p. 1932-1994.
- Farber, J.M., Daley, E.M., Mackie, M.T. et B. Limerick. (2000). A small outbreak of listeriosis potentially linked to the consumption of imitation crab meat. *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 3, p. 100-104.
- Farber, J.M. et J. Harwig. (1996). The Canadian Position on *Listeria monocytogenes* in Ready-to-eat Foods. *Food Control*, vol. 7, p. 253-258.
- Farber, J.M., Ross, W.H. et J. Harwig. (1996). Health Risk Assessment of *Listeria monocytogenes* in Canada. *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 30, p. 145-156.
- Lammerding, A.M. et J.M. Farber. (1994). The Status of *Listeria monocytogenes* in the Canadian Food Industry. *Dairy, Food Environ. Sanit.*, vol. 14, p. 146-150.
- Farber, J.M. (1993). Current Research on *Listeria monocytogenes* in Foods: an Overview. *J. Food Prot.*, vol. 56, p. 640-643.

## Annexe A : Définitions

### Additifs alimentaires :

L'article B.01.001 du titre 1, partie B (Aliments) du *Règlement sur les aliments et drogues* définit ainsi l'expression « Additifs alimentaires » : « *additif alimentaire* » s'entend de toute substance dont l'emploi est tel ou peut vraisemblablement être tel que cette substance ou ses sous-produits sont intégrés à un aliment ou en modifient les caractéristiques, à l'exclusion de ce qui suit : a) toute substance nutritive qui est employée, reconnue ou vendue couramment comme substance alimentaire ou comme ingrédient d'un aliment, b) vitamines, minéraux nutritifs et acides aminés, autres que ceux qui sont énumérés aux tableaux du titre 16, c) épices, assaisonnements, préparations aromatisantes, essences, oléorésines et extraits naturels, d) produits chimiques agricoles autres que ceux visés aux tableaux du titre 16, e) matériaux d'emballage des aliments ou toute substance qui entre dans leur composition, et f) produits pharmaceutiques recommandés pour les animaux dont la chair peut être consommée par l'homme (food additives) (Santé Canada, 2007; Gouvernement du Canada, 2010b).

Au Canada, les additifs alimentaires sont régis par la *Loi sur les aliments et drogues* et son *Règlement*; par conséquent, les additifs doivent être inscrits au tableau du titre 16 du *Règlement* avant d'être utilisés. Si le *Règlement* ne permet pas l'utilisation d'un additif alimentaire particulier, le transformateur d'aliments PAM doit déposer une proposition d'additif alimentaire en vertu de l'article B.16.002 du *Règlement* avant de l'utiliser dans les aliments vendus au Canada. Dans certaines situations, l'utilisation commerciale d'un additif alimentaire déjà approuvé dans une nouvelle application peut être permise à l'aide d'une Autorisation de mise en marché provisoire (AMP), conformément à l'article B.01.056 du *Règlement*. Une AMP offre un mécanisme de transition entre la date d'acceptation d'une proposition et la date de publication d'un amendement réglementaire final dans la *Partie II* de la *Gazette du Canada*. Une AMP entre en vigueur lors de sa publication dans la *Partie I* de la *Gazette du Canada* (Santé Canada, 2007; Santé Canada, 2009; Gouvernement du Canada, 2010b).

### Aliments nouveaux / procédés nouveaux :

La Direction des aliments (Santé Canada) assume, aux termes de la loi, la responsabilité des évaluations précommercialisation des aliments nouveaux et des ingrédients d'aliments nouveaux tels qu'ils sont décrits au titre 28 de la partie B du *Règlement sur les aliments et drogues* (*aliments nouveaux*). Selon l'article B.28.001, un « *aliment nouveau* » est, mais n'est pas limité à, un aliment qui a été fabriqué, préparé, conservé ou emballé au moyen d'un procédé qui : (i) n'a pas été appliqué auparavant à l'aliment; et (ii) qui a fait subir à l'aliment un changement majeur qui fait en sorte que les propriétés de l'aliment se situent en dehors des variations naturelles acceptables de l'aliment, en termes d'innocuité microbiologique et chimique (Gouvernement du Canada, 2010b).

### Aliments prêts-à-manger :

Les aliments prêts-à-manger (PAM) sont des aliments qui ne requièrent aucune préparation avant leur consommation, sauf peut-être pour ce qui est de les laver/rincer, de les décongeler ou de les réchauffer.

Seuls les aliments PAM des groupes suivants sont toutefois assujettis aux dispositions de la politique sur la *Listeria* : les aliments que l'on a soumis à une transformation quelconque (le plus souvent la cuisson) pour les rendre PAM et/ou à une autre transformation pour en prolonger la durée de conservation. Dans ce dernier cas, les méthodes de transformation comprennent, sans toutefois s'y limiter, le traitement par la chaleur ou l'utilisation de produits chimiques, la réduction du pH, la réduction de l'activité de l'eau ou l'utilisation d'un emballage spécial. Ce groupe comprend aussi les fruits et légumes frais transformés et vendus comme des aliments PAM<sup>5</sup>. Ces produits peuvent être conservés à la température ambiante, ou il peut être nécessaire de les réfrigérer ou de les congeler pour les conserver jusqu'au moment de les consommer.

En vertu de cette définition, la politique sur la *Listeria* exclut les produits secs (p. ex., céréales, herbes séchées, mélanges d'épices séchées, pâtes alimentaires séchées, pain, etc.), les fruits et légumes crus<sup>6</sup>, toute viande crue ou tout poisson/fruit de mer cru<sup>7</sup>, ainsi que tout produit entièrement cuit dans un contenant hermétique et qui n'a pas été exposé à l'environnement après avoir subi un traitement à la chaleur validé (p. ex., aliments en conserve, transformation et emballage aseptiques, ainsi que les produits cuits dans l'emballage qui démontrent une réduction d'au moins cinq unités logarithmiques pour le dénombrement de *L. monocytogenes*). La politique sur la *Listeria* exclut également les produits transformés qui doivent être cuits et dont les directives de cuisson adéquates sont clairement indiquées sur l'emballage<sup>8</sup>.

---

<sup>5</sup> Les fruits et les légumes fraîchement coupés PAM sont visés par les dispositions de la présente politique, c.-à-d., les fruits et les légumes crus qui ont été soit lavés et pelés, soit coupés, broyés ou râpés avant d'être emballés pour mise sur le marché et consommation à l'état cru, et non pour transformation ultérieure, ni cuisson (p. ex., laitue râpée emballée, salade de chou, melons frais coupés ou salade de fruits).

<sup>6</sup> Les fruits et les légumes fraîchement coupés qui ne sont pas PAM ne sont pas visés par les dispositions de la présente politique, c.-à-d., les fruits et les légumes frais crus qui ont été lavés, pelés, coupés, broyés ou râpés avant d'être emballés pour mise sur le marché et qui sont accompagnés d'instructions de cuisson sur l'emballage (p. ex., légumes mélangés fraîchement coupés qui serviront d'ingrédients pour la pizza ou pour la préparation d'une soupe), ainsi que les fruits et légumes entiers frais et crus, c.-à-d., les fruits et légumes entiers frais qui ont été seulement parés, nettoyés, brossés, lavés, triés, emballés ou autrement préparés pour consommation humaine (p. ex., herbes fraîches, fruits ou légumes entiers parés, légumes feuillus entiers et baies).

<sup>7</sup> Exception : le sushi qui peut, ou non, contenir du poisson cru, est considéré comme un aliment PAM et il est par conséquent visé par les dispositions de la présente politique.

<sup>8</sup> Les produits transformés qui paraissent cuits (mais qui ne le sont pas entièrement) peuvent être considérés comme étant PAM, et par conséquent peuvent être assujettis aux dispositions de cette politique, s'ils n'affichent que des directives de cuisson pour le micro-ondes, ou si les instructions ne sont que pour réchauffer et servir les produits.



**Aliments PAM qui permettent à *Listeria monocytogenes* de se multiplier (c.-à-d., catégorie 1 et catégorie 2A) :**

Des renseignements scientifiques permettront de déterminer les aliments PAM dans lesquels *L. monocytogenes* peut se multiplier et la catégorie à laquelle ils appartiendront. Aux fins de la présente politique, *L. monocytogenes* peut se multiplier dans un aliment PAM, si :

i) dans un lot naturellement contaminé, l'aliment PAM, durant toute sa durée de conservation prévue (p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage), qui a été entreposé dans des conditions raisonnables de distribution, d'entreposage et d'utilisation peut démontrer la présence de *L. monocytogenes* à:

- des concentrations >100 UFC/g tel que déterminé par ensemencement direct, c.-à-d., par exemple, MFLP-74 (voir l'annexe E), ou en utilisant une autre méthode de dénombrement pour *L. monocytogenes* publiée dans le Compendium de méthodes de Santé Canada dont la section « Application » correspond au but visé (p. ex., méthodes MFHPB et MFLP) (Catégorie 1);

OU

ii) dans un lot inoculé représentatif, l'aliment PAM, durant toute sa durée de conservation prévue (p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage), qui a été entreposé dans des conditions raisonnables de distribution, d'entreposage et d'utilisation, démontre que le dénombrement de *L. monocytogenes*:

- a augmenté d'au moins 0,5 log UFC/g<sup>9</sup>

ET

- a augmenté à des concentrations >100 UFC/g

(Catégorie 1)

OU

iii) dans un lot inoculé représentatif, l'aliment PAM, durant toute sa durée de conservation prévue (p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage), qui a été entreposé dans des conditions raisonnables de distribution, d'entreposage et d'utilisation, démontre que le dénombrement de *L. monocytogenes*:

- a augmenté d'au moins 0,5 log UFC/g<sup>9</sup>

ET

- a augmenté à des concentrations ≤ 100 UFC/g

(Catégorie 2A)

---

<sup>9</sup> 0,5 log représente le double de l'écart-type estimatif (c.-à-d., 0,25 log) de la numération sur plaque de l'essai (CAC, 2009a).



La croissance de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM est présumée, si les valeurs de pH et d' $a_w$  ne sont pas dans la fourchette précisée dans les notes du tableau 1, c.-à-d., pH <4,4, peu importe l' $a_w$ ;  $a_w$  <0,92, peu importe le pH; une combinaison de facteurs (p. ex., pH <5,0 et  $a_w$  <0,94), etc. sauf si le transformateur d'aliments PAM/l'importateur peut présenter, aux fins de révision par les autorités réglementaires, des données validées qui démontrent que *L. monocytogenes* ne se multipliera pas dans le produit qui a été entreposé dans des conditions raisonnables de distribution, d'entreposage et d'utilisation durant toute sa durée de conservation prévue, p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage (CCA, 2009a). De plus, les modèles de prédiction validés, étoffés et reposant sur de bonnes données scientifiques peuvent jouer un rôle important (accompagnés de d'autres renseignements à l'appui), pour déterminer si la formulation ou le traitement d'un produit donné réduira la probabilité de la présence ou de la prolifération de *Listeria*.

### **Aliments PAM qui ne permettent pas à *Listeria monocytogenes* de se multiplier, tel que déterminé à l'aide de méthodes validées (c.-à-d., catégorie 2B) :**

La détermination des aliments dans lesquels *L. monocytogenes* ne peut pas se multiplier devrait être basée sur des renseignements scientifiques validés, ces derniers devraient être revus par les autorités réglementaires. Des facteurs comme le pH, l' $a_w$ , les inhibiteurs et la température d'entreposage sont des paramètres importants qui influencent la prolifération de l'organisme. On considère que les aliments PAM ne supportent pas la croissance de *L. monocytogenes*, si les valeurs du pH et de l' $a_w$  cadrent dans les intervalles des valeurs précisées dans les notes incorporées du tableau 1, c.-à-d., pH < 4,4, peu importe l' $a_w$ ;  $a_w$  < 0,92, peu importe le pH; une combinaison de facteurs (p. ex., pH < 5,0 et  $a_w$  < 0,94); et aliments congelés, etc., dans des conditions raisonnablement prévisibles de distribution, d'entreposage et d'utilisation durant toute la durée de conservation prévue de l'aliment, p. ex., date limite de conservation telle que la date « meilleur avant » inscrite sur l'emballage (CCA, 2009a).

Si les paramètres physico-chimiques de l'aliment PAM ne rencontrent pas, de façon constante, les plages mentionnées ci-haut, des études d'épreuves par provocation comportant la conception, la mise en application et l'interprétation des résultats devront être effectuées (Santé Canada, 2010f). Par exemple, la prolifération de *L. monocytogenes* peut être contrôlée dans les aliments PAM qui contiennent des agents de conservation qui agissent comme des agents antibactériens (p. ex., additifs alimentaires comme le lactate de potassium, l'acétate de sodium, le diacétate de sodium, le lactate de sodium). L'absence de croissance peut, par exemple, être démontrée à l'aide d'expériences sur des aliments contaminés naturellement, des épreuves par provocation, présentation d'information extraite de la documentation scientifique, des modèles microbiologiques de prédiction validés accompagnés de d'autres sources de données, des ARS ou d'une combinaison de ceux-ci<sup>10</sup>. La confirmation d'absence de croissance devrait tenir compte de l'erreur de mesure de la méthode de validation. À des fins pratiques, un aliment dans lequel, par ensemencement direct sur milieu gélosé, le nombre de *L. monocytogenes* n'augmente

---

<sup>10</sup> Par exemple, il a été démontré que les carottes râpées/coupées possèdent peut-être des propriétés anti-*Listeria* (Beuchat et Brackett, 1990; Nguyen-the et Lund, 1991).

pas de 0,5 log UFC/g<sup>11</sup> pendant sa durée de conservation prévue dans des conditions raisonnables de distribution, d'entreposage et d'utilisation (c.-à-d., par exemple, MFLP-74 (voir l'annexe E), ou en utilisant toute autre méthode de dénombrement pour *L. monocytogenes* publiée dans le Compendium de méthodes de Santé Canada dont la section « Application » correspond au but visé (p. ex., méthodes MFHPB et MFLP) est considéré comme ne favorisant pas la croissance de l'organisme (CAC, 2009a). Si l'information est insuffisante, inadéquate ou absente pour démontrer que *L. monocytogenes* ne peut pas proliférer durant toute la durée de conservation du produit suite à la présentation de données de validation, ce dernier sera considéré, par défaut, comme étant un aliment qui permet à *L. monocytogenes* de se multiplier (c.-à-d., catégorie 1). Par conséquent, le plan d'échantillonnage et la méthode d'analyse pour les aliments de catégorie 1 (voir le tableau 1) seront appliqués. Si des questions sont soulevées, il est de la responsabilité du transformateur / importateur de démontrer dans quelle catégorie l'aliment PAM se classifie.

### **Catégories de risque pour la santé :**

#### Risque pour la santé de niveau 1 :

Le risque indiqué pour la santé représente une situation où il existe une probabilité raisonnable que la consommation d'un aliment ou l'exposition à un aliment pourrait entraîner de sérieuses répercussions sur la santé ou causer la mort. Il pourrait également s'agir d'une situation où l'on juge que la probabilité d'une éclosion d'origine alimentaire est élevée.

#### Conseil de Santé Canada :

Il faudrait immédiatement prendre les mesures appropriées afin d'éviter d'exposer la population au produit, y compris au niveau du consommateur. Les mesures de suivi devraient assurer que l'on a déterminé la cause du problème et pris les mesures nécessaires sans tarder pour le corriger.

#### Risque pour la santé de niveau 2:

Le risque indiqué pour la santé représente une situation où il existe une probabilité raisonnable que la consommation d'un aliment ou l'exposition à un aliment pourrait avoir sur la santé des répercussions indésirables temporaires sans menacer la vie. Il pourrait également s'agir d'une situation où l'on juge que la probabilité de répercussions indésirables graves est peu élevée.

#### Conseil de Santé Canada :

Il faudrait prendre sans tarder les mesures nécessaires afin d'éviter d'exposer la population au produit ou de prévenir la distribution subséquente du produit. Les mesures de suivi devraient assurer que l'on a déterminé la cause du problème et pris les mesures nécessaires sans tarder pour le corriger.

### **Date limite de conservation:**

L'article B.01.001 du titre 1, partie B (Aliments) du *Règlement sur les aliments et drogues* définit ainsi l'expression « date limite de conservation » : « *date limite de conservation* » désigne la date où la durée de conservation d'un produit préemballé prend fin; (durable life date) (Gouvernement du Canada, 2010b).

---

<sup>11</sup> 0,5 log représente le double de l'écart-type estimatif (c.-à-d., 0,25 log) de la numération sur plaque de l'essai (CAC, 2009a).

### **Durée de conservation:**

L'article B.01.001 du titre 1, partie B (Aliments) du *Règlement sur les aliments et drogues* définit ainsi l'expression « durée de conservation » : « *durée de conservation* » désigne la période, commençant le jour de l'emballage pour la vente au détail, pendant laquelle un produit préemballé qui est en stockage dans des conditions qui conviennent audit produit, retiendra, sans détérioration appréciable, la nature saine, le caractère agréable au goût et la valeur nutritive que possède ordinairement ce produit, ainsi que toute autre qualité revendiquée par le fabricant; (durable life) (Gouvernement du Canada, 2010b).

### **HACCP :**

Système qui définit, évalue et maîtrise les dangers qui menacent la salubrité des aliments (CCA, 2009b).

### **Ligne :**

Un certain nombre de pièces d'équipement (p. ex., trancheuses, tables, convoyeurs, machines à emballer ou à remplir) utilisées en série dans l'environnement de post-létalité, selon le cas, pour préparer les aliments PAM à l'emballage final.

### **Lot :**

Un lot comprend tous les produits de même type transformés sur une ligne de production précise, entre deux cycles d'assainissement complets, sans toutefois dépasser une journée de production. Au moment de dépister ce lot, les cinq unités d'échantillonnage soumises pour analyse doivent représenter fidèlement ces produits et les conditions de production.

### **Persistant :**

Échecs répétés d'analyses environnementales effectuées sur les échantillons de SCA, p. ex., deux résultats positifs pour *Listeria* spp. pour la même ligne de production (c.-à-d., où l'on utilise le même équipement) dans l'usine de transformation des aliments PAM à l'intérieur d'une courte période.

### **Produits PAM en cause :**

À tout le moins, tous les produits transformés sur la même ligne (c.-à-d., à l'aide du même équipement) que les produits analysés sont considérés comme mis en cause lorsqu'un lot analysé donne un résultat insatisfaisant. Il convient de noter que les résultats d'une analyse des causes fondamentales peuvent également entraîner la nécessité d'ajouter d'autres produits à ceux mis en cause.

### **Réfrigéré :**

L'article B.27.001 du titre 27, partie B (Aliments) du *Règlement sur les aliments et drogues* définit ainsi l'expression « réfrigéré » : « *réfrigéré* » désigne le fait d'être soumis à une température de 4 °C ou moins, sans qu'il y ait congélation (refrigeration) (Gouvernement du Canada, 2010b).

**Surface qui entre en contact avec un aliment :**

Une surface qui entre en contact avec un aliment (SCA) se définit comme toute surface ou tout objet qui entre en contact avec le produit alimentaire PAM (ACIA, 2009b).

**Annexe B : Importantes éclosions signalées de listériose d'origine alimentaire**

**Tableau 2 : Éclosions de listériose associées à des produits carnés et des produits de volaille**

Année	Pays	Listériose invasive/ non invasive	Nombre de cas (décès)	Aliments	Références
1987-1989	Royaume-Uni et Irlande	Invasive	355 (94)	Pâté	McLauchlin et coll., 1991; Farber et Peterkin, 2000
1990	Australie	Invasive	11(6)	Pâté	Watson et Ott, 1990; Kittson, 1992
1992	France	Invasive	279 (85)	Langue de porc en gelée	Goulet et coll., 1993; Jacquet et coll., 1995; Salvat et coll., 1995
1993	France	Invasive	39 (12)	Rillettes de porc (viande PAM de type pâté)	Goulet, 1995; Goulet et coll., 1998
1998-1999	États-Unis	Invasive	108 (14)	Saucisses hot-dog contenant de la viande	Anonyme, 1998; Anonyme, 1999a; Mead et coll., 2006
1999	États-Unis	Invasive	11	Pâté	Anonyme, 1999b
1999-2000	France	Invasive	10 (3)	Rillettes (viande PAM de type pâté)	de Valk et coll., 2001; Swaminathan et coll., 2007
1999-2000	France	Invasive	32 (10)	Langue de porc en gelée	Dorozynski, 2000; de Valk et coll., 2001; Swaminathan et coll., 2007
2000	États-Unis	Invasive	30 (7)	Viande de dinde (charcuterie)	Hurd et coll., 2000; Olsen et coll., 2005
2000	Australie	Non invasive	31	Bœuf salé et jambon PAM	Sim et coll., 2002
2001	États-Unis	Non invasive	16	Dinde tranchée pré-cuite	Frye et coll., 2002
2002	États-Unis	Invasive	54 (8)	Dinde à trancher (charcuterie)	Anonyme, 2002; Gottlieb et coll., 2006
2008	Canada	Invasive	57 (23)	Viande de charcuterie PAM	ASPC, 2009d; ASPC, 2010

**Tableau 3 : Éclosions de listériose associées à des produits laitiers**

Année	Pays	Listériose invasive/ non invasive	Nombre de cas (décès)	Aliments	Références
1983	États-Unis	Invasive	49 (14)	Lait pasteurisé	Fleming et coll., 1985
1983-1987	Suisse	Invasive	122 (31)	Fromage à pâte molle	Bille, 1990; Büla et coll., 1995; Farber et Peterkin, 1991
1985	États-Unis	Invasive	142 (48)	Fromage frais de style mexicain	Anonyme, 1985; Linnan et coll., 1988
1989-1990	Danemark	Invasive	26 (6)	Fromage à pâte persillée ou fromage à pâte dure	Jensen et coll., 1994
1994	États-Unis	Invasive	45	Lait au chocolat	Proctor et coll., 1995; Dalton et coll., 1997
1995	France	Invasive	37 (11)	Fromage à pâte molle fabriqué à partir de lait cru	Goulet et coll., 1995; Rocourt et coll., 1997; Lundén et coll., 2004
1997	France	Invasive	14	Fromages à pâte molle	Jacquet et coll., 1998
1998-1999	Finlande	Invasive	25 (6)	Beurre fabriqué à partir de lait pasteurisé	Lyytikäinen et coll., 2000
2000	Canada (MB)	Invasive	7	Crème à fouetter	Pagotto et coll., 2006; Clark et coll., 2010
2000-2001	États-Unis	Invasive	13	Fromage frais de style mexicain	Boggs et coll., 2001; MacDonald et coll., 2005
2001	Suède	Non invasive	> 120	Fromage frais fabriqué à partir de lait cru dans une ferme d'été	Carrique-Mas et coll., 2003; Danielsson-Tham et coll., 2004
2001	Japon	Non invasive	38	Fromage lavé	Makino et coll., 2005
2001	Belgique	Invasive	2	Gâteau à la crème glacée congelé	Yde et Genicot, 2004
2002	Canada (C.-B.)	Invasive	47	Fromage	Pagotto et coll., 2006
2002	Canada (QC)	Invasive	17	Fromage à pâte molle ou demi-ferme fabriqué à partir de lait cru	Gaulin et coll., 2003; Pagotto et coll., 2006

## Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger

Année	Pays	Listériose invasive/ non invasive	Nombre de cas (décès)	Aliments	Références
2002	Canada (C.-B.)	Non invasive	86	Fromage fabriqué à partir de lait pasteurisé	Pagotto et coll., 2006
2003	États-Unis	Invasive	13 (2)	Fromage frais de style mexicain	Carriedo, 2003; Swaminathan et Gerner-Smidt, 2007
2005	Suisse	Invasive	10 (3)	Fromage à pâte molle	Bille et coll., 2006
2007	États-Unis	Invasive	5 (3)	Lait pasteurisé aromatisé ou non aromatisé	Cuming et coll., 2008
2008	Canada (QC)	Invasive	38 (2)	Fromages	MSSS, 2009
2009-2010	Autriche, Allemagne et République Tchèque	Invasive	34 (8)	Fromage cottage acide « Quargel »	Fretz et coll., 2010a; Fretz et coll., 2010b

**Tableau 4 : Éclotions de listériose associées à des produits de poisson et de fruits de mer**

Année	Pays	Listériose invasive/ non invasive	Nombre de cas (décès)	Aliments	Références
1989	États-Unis	Non invasive	9 (1)	Crevettes	Riedo et coll., 1994
1991	Australie (Tasmanie)	Non invasive	4	Moules fumées produites en Nouvelle-Zélande	Mitchell, 1991; Misrachi et coll., 1991; Brett et coll., 1998
1992	Nouvelle-Zélande	Invasive	4 (2)	Moules fumées	Baker et coll., 1993; Brett et coll., 1998
1994-1995	Suède	Invasive	6 (1)	Truite arc-en-ciel « gravad » et truite arc-en-ciel fumée à froid	Ericsson et coll., 1997
1996	Canada	Invasive	2	Imitation de viande de crabe	Farber et coll., 2000
Inconnue	Finlande	Non invasive	5	Truite arc-en-ciel fumée à froid	Miettinen et coll., 1999



**Tableau 5 : Éclosions de listériose associées à des produits de fruits et légumes**

Année	Pays	Listériose invasive/ non invasive	Nombre de cas (décès)	Aliments	Références
1981	Canada	Invasive	41 (17)	Mélange de salade de chou	Schlech et coll., 1983
1997	Italie	Non invasive	1566	Salade de maïs et de thon	Aureli et coll., 2000
1998-1999	Australie	Invasive	6 (5)	Salade de fruits (préparation du commerce)	Rooney et Sutherland, 2001; Abelson et coll., 2006

**Tableau 6 : Éclosions de listériose associées à d'autres produits alimentaires**

Année	Pays	Listériose invasive/ non invasive	Nombre de cas (décès)	Aliments	Références
1993	Italie	Non invasive	23	Salade de riz	Salamina et coll., 1996 Farber et Peterkin, 2000;
2003	Royaume-Uni	Invasive	5	Sandwichs préemballés	Dawson et coll., 2006
2009	Australie	Inconnue	8	Sandwich roulé au poulet	Réseau international des autorités de sécurité sanitaire des aliments (INFOSAN), 2009

### Annexe C : Utilisation d'additifs alimentaires, d'aides à la transformation et/ou de traitements de post-létalité pour les aliments prêts-à-manger

Les aliments PAM exposés à l'environnement de l'usine après leur fabrication sont plus susceptibles à la contamination par *L. monocytogenes*. De nouvelles formulations de produits PAM qui incorporent des inhibiteurs de *Listeria* pour réduire ou éliminer la possibilité de croissance de l'organisme ont récemment été élaborées. Les traitements de post-létalité, selon le cas, peuvent également être utilisés pour réduire ou éliminer la présence de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM. Bien que volontaire, l'utilisation seule ou combinée d'additifs alimentaires, d'aides à la transformation et/ou des traitements de post-létalité pour contrôler la présence de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM, est fortement recommandée à cette fin. En fait, depuis 2002, suite à l'usage répandu d'inhibiteurs et de protocoles étoffés en matière d'analyse environnementale, il n'y a pas eu d'épidémies de listérioses liées aux viandes PAM aux États-Unis. Il incombe toutefois à l'industrie de démontrer sa capacité et sa volonté de réduire les éventuels risques associés aux aliments PAM. Il est cependant important de préciser que seulement les additifs alimentaires dont l'autorisation a été permise au Canada peuvent être ajoutés dans les aliments PAM et/ou appliqués à ceux-ci, aux termes de la *Loi sur les aliments et drogues* et son *Règlement* (Gouvernement du Canada, 2010a et b).

#### i) Additifs alimentaires et/ou aides à la transformation :

L'utilisation d'inhibiteurs de *Listeria* (classés comme additifs alimentaires ou aides à la transformation, aux termes de la *Loi sur les aliments et drogues* et de son *Règlement*) est une des diverses étapes de l'approche globale visant à minimiser les risques associés à la présence de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM. Pendant la production d'aliments PAM, la mise en application appropriée des BPF contribuera à prévenir l'introduction de pathogènes microbiens et à minimiser leur éventuelle prolifération. Un traitement antimicrobien vise à détruire *L. monocytogenes* ou inhiber sa croissance, de façon partielle ou en totalité. Les transformateurs d'aliments devraient reconnaître que le degré de contrôle dans ces deux domaines a une profonde incidence sur la salubrité globale de leurs aliments PAM. Par conséquent, l'application d'un traitement anti-*Listeria*, visant à être utilisé, devrait être validée pour en assurer l'efficacité et l'uniformité (CCA, 2009a). La documentation scientifique propose, pour les aliments PAM, différents traitements antimicrobiens qui peuvent procurer divers niveaux d'inhibition de croissance de *L. monocytogenes* et/ou de réduction du nombre de pathogènes et ainsi minimiser les risques associés à ces types de produits. Des recherches intensives sont en cours pour découvrir des inhibiteurs de *Listeria* qui sont efficaces et qui procurent une inhibition de croissance et/ou une réduction du nombre dans les aliments PAM, tout au long de leur durée de conservation. Des exemples d'inhibiteurs sont: le lactate de potassium, l'acétate de sodium, le diacétate de sodium et le lactate de sodium. À des fins pratiques, un aliment qui ne permet pas la croissance de *L. monocytogenes* de 0,5 log UFC/g<sup>12</sup> durant sa période de conservation prévue dans des conditions raisonnables de distribution, d'entreposage et d'utilisation, tel que déterminé par ensemencement direct sur milieu gélosé, p. ex., MFLP-74 (voir l'annexe E), ou en utilisant une autre méthode de dénombrement pour *L. monocytogenes* publiée dans le Compendium de méthodes de Santé Canada dont la section « Application » correspond au but visé (p. ex.,

<sup>12</sup> 0,5 log représente le double de l'écart-type estimatif (c.-à-d., 0,25 log) de la numération sur plaque de l'essai (CAC, 2009a).

méthodes MFHPB et MFLP), est considéré comme ne favorisant pas la prolifération de l'organisme (CAC, 2009a). Les autorités réglementaires peuvent passer en revue l'utilisation d'autres inhibiteurs de *Listeria* dans les aliments PAM, si des données suffisantes sont produites. Si l'information est insuffisante, inadéquate ou absente pour démontrer que *L. monocytogenes* ne peut pas proliférer ou peut de manière limitée (c.-à-d., aliment PAM de catégorie 2A ou 2B pour les aliments PAM canadiens ou importés) durant toute la durée de conservation du produit, ce dernier sera considéré, par défaut, comme étant un aliment qui permet à *L. monocytogenes* de se multiplier (c.-à-d., catégorie 1). Par conséquent, le plan d'échantillonnage et la méthode d'analyse pour les aliments de catégorie 1 (voir le tableau 1) seront appliqués. Si des questions sont soulevées, il est de la responsabilité du transformateur / importateur de démontrer dans quelle catégorie l'aliment PAM se classe. Les additifs alimentaires déjà approuvés qui peuvent être utilisés pour potentiellement contrôler la prolifération de *L. monocytogenes* dans les aliments se trouvent sur le site Web de Santé Canada (Santé Canada, 2010g).

### ii) Traitements de post-létalité :

L'utilisation d'un traitement de post-létalité<sup>13</sup> (classé comme « nouveau » ou « non nouveau » aux termes de la *Loi sur les aliments et drogues* et de son *Règlement*), selon le cas, peut également faire partie d'une approche globale visant à minimiser les risques associés à la présence de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM. Ce genre d'étape d'intervention peut réduire les concentrations ou inactiver *L. monocytogenes* pouvant être présente sur les surfaces des produits découlant d'une contamination post-létalité. Les traitements de post-létalité comprennent la pasteurisation thermique de surface (par vapeur, eau chaude, chauffage radiant au four ou technologie infrarouge) et le processus de traitement par haute pression hydrostatique. Présentement, un traitement de post-létalité pour les aliments PAM qui peut produire une réduction minimale du nombre de *L. monocytogenes* de l'ordre de 3-log est recommandé. Il est important de préciser que, peu importe l'efficacité du traitement de létalité post-transformation, les aliments PAM devraient être fabriqués conformément aux pratiques hygiéniques acceptables et aux BPF (Houben et Eckenhausen, 2006; Huang et Sites, 2008). Le site Web de Santé Canada (Santé Canada, 2010g) présente un traitement de post-létalité déjà approuvé qui peut être utilisé pour atténuer le risque de présence de *L. monocytogenes* dans les aliments PAM.

### iii) Conclusion:

En conclusion, l'utilisation d'une combinaison de méthodes, y compris un traitement antimicrobien et/ou un traitement de post-létalité, selon le cas, est conseillée pour obtenir un produit PAM plus sûr. Il est important de préciser qu'un effet synergique peut potentiellement être obtenu, si les deux stratégies sont utilisées conjointement.

---

<sup>13</sup> L'utilisation de nouvelles technologies pour le traitement de post-létalité pourrait être assujettie à une évaluation complète de la Direction des aliments de Santé Canada, conformément à ses *Lignes directrices relatives à l'évaluation de l'innocuité des aliments nouveaux* (Santé Canada, 2006).

Pour ce qui est des traitements de post-létalité « non nouveaux », il est fortement recommandé que le BDM, Direction des Aliments, DGPSA de Santé Canada évalue l'innocuité et l'efficacité microbiologique de ces techniques nouvelles ou améliorées de transformation et manipulation des aliments proposées par l'industrie alimentaire (p. ex., pasteurisation à la vapeur, traitement à l'eau chaude, chauffage radiant au four, chauffage infrarouge).

Annexe D :

**NOTE :** Cette méthode remplacera la méthode MFHPB-30, datée de janvier 2001, le supplément à la méthode MFHPB-30, daté de mars 2002, et l'annexe L (supplément à toutes les méthodes de détection de *Listeria*), daté de août 2005 dans le Compendium de méthodes de Santé Canada lorsque ce document (c.-à-d., « Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger » sera entré en vigueur. Veuillez également noter que cette annexe sera enlevée et que la méthode (ci-bas) sera transférée officiellement dans le Compendium de méthodes de Santé Canada à cette date.

Méthode de la DGPS

MFHPB-30

**Direction Générale des Produits de Santé et des Aliments**

**Ottawa**

**Isolement de *Listeria monocytogenes* dans tous les types d'aliments et les échantillons environnementaux**

**Franco Pagotto, Karine Hébert et Jeff Farber**

Bureau des dangers microbiens  
Direction des aliments  
Santé Canada  
Repère postal : 2204E  
Ottawa (Ont.) K1A 0K9

[micro\\_methods\\_committee@hc-sc.gc.ca](mailto:micro_methods_committee@hc-sc.gc.ca)

**1. Application**

Cette méthode peut servir à la détection de *Listeria* spp. viables dans les aliments et les échantillons environnementaux et permet d'établir s'il y a conformité avec les articles 4 et 7 de la Loi sur les aliments et drogues et avec la politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger (8.2)

Cette méthode révisée remplacera la méthode MFHPB-30, datée de janvier 2001, le supplément à la méthode MFHPB-30, daté de mars 2002, et l'annexe L (supplément à toutes les méthodes de détection de *Listeria*), daté de août 2005.

**2. Principe**

Cette méthode permet de déterminer la présence de *Listeria* spp. viables dans des échantillons alimentaires ou environnementaux. Une portion de l'aliment ou

de l'échantillon environnemental (éponge ou écouvillon) est enrichie dans un bouillon d'enrichissement primaire puis dans un bouillon d'enrichissement secondaire, est étalée sur une gélose sélective obligatoire et sur une autre gélose, et est incubée pendant une période donnée à une température déterminée. Il est convenu que les cellules viables de *Listeria* spp. se multiplient dans ces conditions et forment des colonies visibles qu'il est possible d'identifier. La méthode est fondée sur les méthodes de Lovett (8.4, 8.5), de Hitchins (8.3) et de McClain et Lee (8.6), qui ont été modifiées à la lumière des données recueillies par Warburton et coll. (8.13, 8.14, 8.15) dans le cadre d'études comparatives. Dans la méthode modifiée, le bouillon Fraser modifié (8.7), le milieu au chlorure de lithium, phényléthanol et moxalactame (8.6) et les géloses Oxford (8.13), Oxford modifiée (8.7), et/ou PALCAM (8.15) ont été ajoutés. La méthode a également été modifiée pour y inclure des géloses chromogéniques. Une étape obligatoire qui requiert l'ensemencement sur géloses sélectives du bouillon d'enrichissement LEB (formulation UVM1) après une incubation de 24 heures, en plus du transfert dans le bouillon Fraser modifié, a été ajoutée.

### 3. Définitions

Voir l'Annexe A du volume 2 dans le Compendium de méthodes de Santé Canada.

### 4. Prélèvement des échantillons

4.1 Voir l'Annexe B du volume 2 dans le Compendium de méthodes de Santé Canada.

4.2 Pour prélever les échantillons environnementaux, procéder de la façon décrite dans la méthode MFLP-41 dans le Compendium de méthodes de Santé Canada.

### 5. Matériel et produits spéciaux

<p><b>Note :</b> Il est de la responsabilité du superviseur du laboratoire de voir à ce que l'analyse décrite dans cette méthode soit réalisée en accord avec la Norme internationale intitulée « ISO/IEC 17025:2005 (ou la version plus récente): Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais ».</p>
---

Les milieux et réactifs énumérés ci-après sont disponibles dans le commerce et doivent être préparés et/ou stérilisés selon les instructions du fabricant. Voir aussi l'annexe G du volume 2 dans le Compendium de méthodes de Santé Canada pour la composition des milieux.

**Note :** Si l'analyste utilise une variation des milieux énumérés ci-dessous (produit disponible commercialement ou préparé à partir des ingrédients de base), il incombe à l'analyste ou au surveillant du laboratoire d'en assurer l'équivalence. Il serait apprécié que les résultats d'équivalence soient transmis à l'éditeur du Compendium des méthodes analytiques en vue d'une modification de la méthode.

**Bouillons de *Listeria* et géloses** (les milieux de base et les suppléments sont disponibles dans le commerce)

- 1) Bouillon d'enrichissement de *Listeria* (LEB)- formulation UVM 1
- 2) Bouillon Fraser modifié (MFB)
- 3) Gélose Oxford (OXA) - milieu d'ensemencement obligatoire
- 4) Géloses sélectives secondaires - l'utilisation de l'une d'entre elles est obligatoire
  - Gélose pour *Listeria* selon Ottaviani & Agosti (ALOA)
  - Gélose A.L. (Bio-Rad)
  - Gélose BBL CHROMagar *Listeria* (BD)
  - Gélose Brillance *Listeria* (OCLA ; Oxoid)
  - Milieu au chlorure de lithium, phényléthanol et moxalactame (LPM)
  - Gélose Oxford modifiée (MOX)
  - Gélose PALCAM (PAL)
  - Gélose RAPID'L.Mono (Bio-Rad)
- 5) Cultures témoins - utiliser des souches ATCC ou l'équivalent
  - Témoins positifs : *Listeria monocytogenes*, *Listera ivanovii*, *Listeria innocua*, *Listeria grayi*
  - Facultatif : *Staphylococcus aureus* et *Rhodococcus equi*
- 6) Stomacher, mélangeur ou l'équivalent, vortex
- 7) Microscope
- 8) Incubateurs pouvant maintenir des températures de 30°C et 35°C.

**Note :** Il incombe à chaque laboratoire de s'assurer que les températures des incubateurs ou des bains-marie demeurent au niveau recommandé. Lorsqu'une température de 35°C est recommandée dans le texte de la méthode, l'incubateur peut être à 35 ± 1,0°C. De même, les températures plus basses de 30 ou 25°C peuvent être à ± 1,0°C. Toutefois, lorsque des températures plus élevées, comme 43 ou 45,5°C, sont recommandées, il est impératif de maintenir les incubateurs ou les bains-marie à ± 0,5°C parce que les températures plus élevées peuvent être mortelles pour les microorganismes à isoler.

#### Milieux de confirmation et réactifs

- 9) Bouillon et gélose (TA) de tryptose
- 10) Bouillon et gélose de trypticase-soja additionnés de 0,6 % d'extrait de levure (TSB-YE et TSA-YE)
- 11) Gélose au sang de cheval ou au sang de mouton - recommandé pour l'épreuve de l'hémolyse
- 12) Milieu pour l'épreuve de motilité
- 13) Géloses ou bouillons de fermentation des glucides (mannitol, rhamnose et xylose).  
**Note :** Il est possible d'effectuer les épreuves de fermentation au moyen de trousse d'identification rapide (6.8.2).

#### Facultatif

- 14) Trousse d'identification rapide comme les trousse Vitek ou API *Listeria* (Bio Mérieux Vitek, Inc.) Micro-ID *Listeria* (Organon Teknika Corp.), Accuprobe<sup>MD</sup> pour *Listeria* (Gen-Probe; MFLP-88), O.B.I.S. Mono (Oxoid Biochemical Identification System; Oxoid) ou l'équivalent.
- 15) Autres géloses nouvelles ou chromogéniques : Des géloses chromogéniques et d'autres nouvelles géloses d'isolement peuvent être utilisées mais seulement de concert avec les milieux obligatoires.
- 16) Gélose au sang de mouton - pour l'épreuve de CAMP
- 17) Trousse d'agglutination au Latex (par exemple, la trousse Oxoid *Listeria* Test)
- 18) Antisérums de *Listeria monocytogenes* (Denka Seiken)
- 19) Solutions pour la coloration de Gram



- 20) Peroxyde d'hydrogène à 3 % - pour l'épreuve de catalase
- 21) Produits biochimiques - dextrose, esculine, maltose,  $\alpha$ -méthyl-D-mannoside
- 22) Disques de bêta-lysine (Remel)

## 6. Marche à suivre

Analyser chaque unité d'échantillonnage séparément ou regrouper les unités d'analyse en composites selon le plan d'échantillonnage présenté dans la politique de *Listeria*. Compter une partie d'échantillon pour 9 parties de bouillon d'enrichissement stérile. Des données sur la distribution de *Listeria* peuvent être obtenues en analysant séparément chaque unité d'analyse. Effectuer l'analyse conformément aux instructions suivantes :

### 6.1 Manipulation des unités d'échantillonnage

- 6.1.1 Les unités d'échantillonnage doivent être conservées au réfrigérateur ou au congélateur, selon la nature du produit, jusqu'au moment de l'analyse sauf dans le cas des aliments pouvant être conservés à la température de la pièce pour une longue période de temps. Faire dégeler les échantillons congelés au réfrigérateur ou pendant une période et à une température qui empêchent la croissance ou la mort des microorganismes.
- 6.1.2 Analyser les unités d'échantillonnage aussitôt que possible après leur arrivée au laboratoire.

### 6.2 Préparation de l'analyse

- 6.2.1 Avoir sous la main du bouillon d'enrichissement de *Listeria* (LEB) stérile, préalablement chauffé à  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ .
- 6.2.2 Nettoyer la surface de travail avec un désinfectant.

### 6.3 Préparation de l'échantillon

Pour obtenir une unité d'analyse représentative, agiter les liquides ou les matières fluides jusqu'à homogénéité. Si l'unité d'échantillonnage est un solide, constituer l'unité d'analyse en prélevant des portions à plusieurs endroits.

#### 6.4 Méthode d'enrichissement (voir la figure 4)

**Note:** Pour ajouter de la flexibilité dans les périodes d'incubation décrites dans la méthode, les directives suivantes peuvent être appliquées: les périodes d'incubation de 24 heures sont de  $\pm 2$  h et celles de 48 heures, de  $\pm 4$  h.

*Échantillons environnementaux :* Ajouter 100 ml de LEB à une éponge ou un écouvillon de grande taille, ou 100 ml de LEB par éponge à un composite comportant jusqu'à 10 éponges (voir MFLP-41 dans le Compendium de méthodes de Santé Canada) Déposer les petits écouvillons (par exemple, un coton-tige) dans 10 ml de LEB ou ajouter 10 ml de LEB par écouvillon à un composite comportant jusqu'à 10 écouvillons.

*Échantillons alimentaires:* Ajouter 25 g ou ml d'aliment (unité d'analyse), à 225 ml de LEB dans le bocal d'un mélangeur ou dans un sac Stomacher. Dans le cas des échantillons composites, les unités analytiques peuvent être combinées jusqu'à concurrence de 125g ou ml (par exemple, 125g ou ml d'aliment à 1125 ml de LEB). Si des unités d'analyses différentes sont requises, maintenir un ratio de 1 portion d'échantillon pour 9 portions de LEB.

Pour les échantillons environnementaux et alimentaires, bien mélanger ou broyer pour homogénéiser. Le LEB ensemencé peut être incubé dans le sac stomacher ou dans tout autre contenant stérile. Incuber le LEB ensemencé à 30°C pendant 48 heures.

#### 6.4.1 Réfrigération du bouillon d'enrichissement (LEB) incubé - FACULTATIF

6.4.1.1 Cette approche permet la réfrigération du bouillon incubé jusqu'à 4 jours et une plus grande flexibilité.

6.4.1.2 Bien mélanger après la réfrigération avant d'effectuer l'étape

6.5.

#### 6.5 Enrichissement sélectif

6.5.1 Après 24 et 48 heures d'incubation, mélanger le LEB manuellement ou au vortex. Ensemencer 10 ml de bouillon Fraser modifié (MFB) avec 0,1 ml de LEB. Incuber à 35°C pendant 24 à 26 heures. En plus, après l'incubation 24 heures du LEB (au même moment où le transfert du LEB au MFB est effectué), effectuer l'étape 6.6, et ensemencer le bouillon LEB directement sur les géloses sélectives, telles que décrites

à l'étape 6.6.1. De façon optionnelle, le bouillon LEB de 48 heures peut aussi être ensemencé sur les géloses sélectives.

**Conseil pratique:**

Après 20 à 24 heures d'incubation, mélanger le MFB au vortex et incubé encore 2 à 6 heures avant d'interpréter la réaction.

L'interprétation après 26 heures peut réduire considérablement le nombre d'ensemencement à réaliser après 48 heures.

- 6.5.2 Si le bouillon MFB est positif, l'étaler en stries sur des géloses sélectives (étape 6.6). Un bouillon positif prend une couleur foncée et peut être noir, brun foncé ou vert foncé. Un bouillon négatif conserve la couleur paille du bouillon fraîchement préparé. Si le bouillon est négatif, l'incuber pendant encore 24 heures puis, s'il devient positif, l'étaler en stries sur des géloses sélectives (étape 6.6).

## 6.6 Méthode d'isolement

- 6.6.1 Mélanger le bouillon MFB au vortex, étaler le bouillon MFB positif en stries sur deux géloses distinctes. Utiliser une gélose Oxford et l'une des géloses suivantes tel que défini au point 5 : gélose ALOA, gélose A.L, gélose BBL CHROMagar Listeria, gélose Brillance Listeria, gélose au chlorure de lithium, phényléthanol et moxalactame, gélose Oxford modifiée, gélose PALCAM ou gélose RAPID'L.Mono. Incuber les géloses LPM à 30°C et toutes les géloses sélectives à 35°C pendant 48 heures. Examiner toutes les géloses à 24 heures pour détecter la présence de colonies typiques, à moins d'indication contraire du fabricant.

Prendre note que jusqu'à 2 géloses de chacune des géloses sélectives peuvent être ensemencées au cours d'une même analyse : une ensemencée à partir du LEB après une incubation de 24 heures, et potentiellement une deuxième ensemencée à partir d'un bouillon MFB positif.

- 6.6.2 **Géloses OXA** - Après 24 heures, *Listeria* spp. forme des colonies noires de 1 mm de diamètre entourées d'un halo noir. Après 48 heures, des colonies noires de 2 à 3 mm de diamètre au centre affaissé et entourées d'un halo noir sont observées. Les colonies peuvent aussi présenter une apparence brun noir ou vert noir. Si les géloses sont examinées moins de 24 heures après le début de l'incubation, des colonies de *Listeria* sans la coloration noire caractéristique peuvent être décelées. Certaines souches de *Listeria*, autres que *L. monocytogenes*, sont inhibées par ce milieu s'il est incubé à 35°C.

**Note :** Une des géloses suivantes doit être utilisée en parallèle avec la gélose Oxford, laquelle est obligatoire dans la présente méthode

- 6.6.3 **Gélose Listeria selon Otaviani & Agosti** - Les colonies de *Listeria* spp. sont bleu-vert et les colonies de *L. monocytogenes* et *L. ivanovii* forment des colonies bleu-vert entourées d'un halo blanc opaque après 24 heures d'incubation. Les autres espèces *Listeria* forment des colonies bleu-vert sans halo. Consulter les instructions du fabricant pour une description plus détaillée.
- 6.6.4 **Gélose A.L.** - Toutes les espèces de *Listeria* forment des colonies bleues à bleu-vert. Les colonies de *L. monocytogenes* et de *L. ivanovii* ont des halos opaques autour des colonies après 24 et 48 heures d'incubation respectivement.
- 6.6.5 **Gélose BBL CHROMagar** - *L. monocytogenes* et *L. ivanovii* forment des colonies bleu-vert entourées d'un halo blanc opaque. Les autres espèces de *Listeria* forment des colonies bleu-vert sans halo.
- 6.6.6 **Gélose LPM** - Pour repérer les colonies suspectes sur les géloses LPM, examiner les géloses à l'aide d'un faisceau de lumière blanche suffisamment puissant pour bien éclairer la gélose, en formant un angle de 45° avec le fond de la gélose. Sous une transillumination optimale, les colonies de *Listeria* les plus isolées et les plus grosses (âgées de 48 heures) apparaissent comme des amas blanchâtres de verre pilé présentant souvent des structures internes en mosaïque et, parfois, des reflets irisés bleu gris qui ont tendance à scintiller. Les colonies peuvent aussi paraître lisses et bordées de bleu. Lorsque la croissance est confluyente, un reflet bleu gris irisé et homogène peut être observé.
- 6.6.7 **Géloses MOX** - Après 24 heures, *Listeria* spp. forme des colonies noires de 1 mm de diamètre entourées d'un halo noir. Après 48 heures, des colonies noires de 2 à 3 mm de diamètre au centre affaissé et entourées d'un halo noir sont observées. Les colonies peuvent aussi présenter une apparence brun-noir ou vert-noir. Si les géloses sont examinées moins de 24 heures après le début de l'incubation, des colonies de *Listeria* sans la coloration noire caractéristique peuvent être décelées. Certaines souches de *Listeria*, autres que *L. monocytogenes*, sont inhibées par ce milieu s'il est incubé à 35°C.

- 6.6.8 **Gélose Brillance Listeria (autrefois gélose OCLA)** - *L.monocytogenes* et *L.ivanovii* forment des colonies bleues entourées d'un halo opaque, alors que les autres espèces de *Listeria* forment des colonies bleues sans halo après 24 heures.
- 6.6.9 **Gélose PAL** - Les colonies de *Listeria* spp. mesurent environ 2 mm de diamètre, ont une coloration gris-vert, un centre noir affaissé et un halo noir sur fond rouge cerise. Certaines souches d'*Enterococcus* et de *Staphylococcus* forment des colonies grises entourées d'un halo brun-vert, ou des colonies jaunes entourées d'un halo jaune
- 6.6.10 **RAPID L. Mono** - *L. monocytogenes* forme des colonies bleues sans halo jaune alors que *L.ivanovii* forme des colonies bleu-verdâtre avec un halo jaune. Les autres espèces de *Listeria* sont d'une couleur jaune à blanche.

## 6.7 Méthode d'identification - Confirmation

- 6.7.1 *Si les colonies sont bien isolées sur les géloses sélectives* : Prélever au moins cinq colonies caractéristiques de chaque gélose sélective pour les déposer sur une gélose au sang (6.7.2) et ce, pour chaque étape où des géloses sélectives ont été ensemencées (par exemple, après une incubation de 24 heures du LEB, après le noircissement du bouillon MFB, etc.)

*Si les colonies ne sont PAS bien isolées sur les géloses sélectives* : Prélever au moins cinq colonies caractéristiques de chaque gélose sélective pour les déposer sur une gélose au tryptose ou une gélose trypticase-soja avec de l'extrait de levure à 0,6 % en formant des stries de façon à obtenir des colonies isolées. Comme mentionné précédemment, prélever des colonies typiques pour chacune des étapes de la méthode où des géloses sélectives ont été ensemencées. Incuber les géloses à 30°C pendant 24 à 48 heures ou jusqu'à ce que la croissance soit satisfaisante. Examiner les géloses sous l'éclairage déjà décrit en 6.6.6 pour déceler les colonies caractéristiques.

Il est possible de confirmer la présence de *Listeria* spp. en utilisant les épreuves de motilité, d'hémolyse et des 3 géloses de glucides (mannitol, rhamnose et xylose) ou d'autres étapes de confirmation publiées dans le Compendium des méthodes analytiques et considérées équivalentes. Des épreuves biochimiques supplémentaires sont facultatives. Des trousse d'identification rapide peuvent aider à renforcer la confirmation de ces résultats et à distinguer les différentes espèces de *Listeria* (6.8.1).

### 6.7.2 Hémolyse :

Quadriller le fond de boîtes de gélose au sang (mouton ou cheval) de façon à obtenir de 20 à 25 carrés. Prélever des colonies caractéristiques des géloses sélectives (si les colonies sont bien isolées) ou des géloses TA ou TSA-YE (si elles sont ensemencées de façon à assurer leur pureté) et ensemencer les géloses au sang par piqûre à raison d'une colonie par carré.

Toujours, ensemencer par piqûre des contrôles positifs et négatifs (*L. monocytogenes*, *L. ivanovii* and *L. innocua* or *L. grayi*) sur chaque gélose au sang. Incuber à 35°C pendant 24 heures.

**Note :** Il est recommandé d'ensemencer la gélose au sang, la gélose de motilité et les géloses aux glucides simultanément à partir de la même colonie. S'assurer que chaque colonie soit placée à la même position sur les géloses quadrillées.

Examiner par transillumination avec un éclairage intense les géloses au sang ensemencées par piqûre (tenir la gélose de façon à ce que la lumière provienne de l'arrière de la gélose). *L. monocytogenes* produit une zone d'hémolyse légère au point de piqûre. *L. innocua* ne produit aucune zone d'hémolyse tandis que *L. ivanovii* produit une zone franche d'hémolyse.

### 6.7.3 Motilité :

*Gélose :* Ensemencer le milieu pour l'épreuve de motilité à partir d'une gélose sélective, TA ou TSA-YE. Incuber pour un minimum de 48 heures à la température de la pièce. Observer tous les jours. Seules les cellules de *Listeria* spp. produisent une croissance typique en forme de parapluie.

et/ou

*Montage humide :* Prélever au moins une colonie caractéristique sur une gélose sélective, TA ou TSA-YE incubée 30°C ou moins, et faire un montage humide en utilisant comme milieu de suspension de la saline 0.85% et un microscope à contraste de phase muni d'un objectif à immersion.

*Alternativement* : Inoculer les bouillons TSB ou TSB-YE et incubé à 30°C jusqu'au lendemain. Transférer une pleine anse des cultures dans un bouillon TSB ou TSB-YE frais et incubé à 25°C pendant 6 heures. Déposer une goutte de chaque culture de 6 heures sur une lamelle de verre et examiner la motilité typique de *Listeria* au moyen d'un microscope à contraste de phase muni d'un objectif à immersion. *Listeria* spp. a l'apparence d'un bâtonnet fin et court qui bouge par culbutage. Il faut toujours comparer les observations à celle d'une culture de *Listeria* connue. Les cocci, les gros bâtonnets et les bâtonnets qui se déplacent rapidement par des mouvements natatoires ne sont pas des *Listeria* spp.

#### 6.7.4 Utilisation des glucides

*Géloses* : Quadriller le fond des boîtes de gélose aux glucides (mannitol, rhamnose et xylose) de façon à obtenir de 20 à 25 carrés. Prélever des colonies caractéristiques des géloses sélectives, TA ou TSA-YE et ensemercer les géloses par piqûre à raison d'une colonie par carré. Chaque colonie doit être placée à la même position sur les géloses quadrillées. Des témoins positifs et négatifs (*L. ivanovii*, *L. monocytogenes* et *L. grayi*) doivent toujours être préparés. Incuber à 35°C pendant 24 heures.

et/ou

*Bouillons* : Utiliser la culture sur TSB-YE pour ensemercer des bouillons pourpres additionnés de solutions 0,5% de dextrose, d'esculine, de maltose, de mannitol, de rhamnose, de  $\alpha$ -méthyl-D-mannoside et de xylose. Incuber à 35°C pendant 7 jours. Examiner les milieux tous les jours. *Listeria* spp. acidifie le milieu sans dégager de gaz ou ne produit aucune réaction.

Pour connaître les caractéristiques de fermentation des glucides des diverses espèces de *Listeria*, consulter le Tableau 7.

### 6.8 Méthode d'identification - Épreuves facultatives

#### 6.8.1 PCR

À partir d'une colonie unique prélevée d'une gélose sélective, suivre une méthode de confirmation validée pour l'identification de l'espèce *Listeria* (voir le Compendium de méthodes de Santé Canada). Il est suggéré que les colonies identifiées par PCR soit aussi ensemercées



sur une gélose TA ou TSA-YE à partir de la gélose au sang (6.7.2) afin d'obtenir des colonies isolées. Des épreuves biochimiques peuvent être nécessaires si mentionnées dans la méthode PCR. Suivre les étapes décrites dans la méthode PCR et consulter cette dernière pour l'interprétation des résultats obtenus par PCR.

#### 6.8.2 Trousses d'identification rapide

Des trousse d'identification rapide comme les épreuves Vitek ou API *Listeria*, Micro-ID *Listeria*, *Listeria* Accuprobe<sup>MD</sup> ou l'équivalent peuvent être utilisées. Suivre les consignes du fabricant.

#### 6.8.3 Catalase

Soumettre une colonie caractéristique à une épreuve de dépistage de la catalase. Transférer une colonie sur une lame de verre propre et ajouter une goutte de peroxyde d'hydrogène à 3 %. La formation de bulles indique une réaction positive. Les cellules de *Listeria* sont catalase-positives. Éviter d'utiliser des colonies isolées de gélose contenant du sang car elles peuvent produire un résultat faussement positif.

#### 6.8.4 Coloration de Gram

*Listeria* est un petit bâtonnet Gram-positif.

#### 6.8.5 Épreuve de CAMP

Sur une gélose au sang de mouton, étaler en stries verticales des isolats frais de *Staphylococcus aureus* et *Rhodococcus equi* β-hémolytiques. Espacer les stries verticales de manière à pouvoir étaler les souches à tester en stries horizontales, entre les stries verticales mais sans leur toucher. Après 24 à 48 heures d'incubation à 35°C, rechercher la présence d'hémolyse dans la zone des stries verticales.

6.8.5.1 L'hémolyse de *L. monocytogenes* et de *L. seeligeri* est plus prononcée à proximité de la strie de *Staphylococcus* et celle de *L. ivanovii* est plus prononcée à proximité de la strie de *Rhodococcus*. Les autres espèces de *Listeria* donnent des résultats négatifs lors de l'épreuve de CAMP. L'épreuve permet de distinguer *L. ivanovii* de *L. seeligeri* et *L. seeligeri* faiblement hémolytique de *L. welshimeri*.

6.8.5.2 L'épreuve de CAMP peut également être réalisée au moyen de disques stériles renfermant le facteur β-lysine de *S. aureus* vendus dans le commerce. Pour effectuer cette épreuve, déposer un disque de β-lysine

au centre d'une gélose au sang de mouton et ensemercer la gélose avec 4 ou 5 colonies de *Listeria* en stries radiales sans toucher le disque avec l'inoculum. Après 18 à 24 heures d'incubation à 35°C, une réaction très nette peut être observée entre le disque et les cultures de *L. monocytogenes* ou de *L. seeligeri*. *L. ivanovii* est fortement hémolytique et produit une zone claire de β-hémolyse tout le long de la strie.

### 6.8.6 Sérologie

Suivre les consignes du fabricant jointes aux antisérums.

## 6.9 Interprétation des résultats - Identification de l'espèce

*Listeria* spp. se présente sous la forme de petits bâtonnets mobiles Gram-positif. Toutes les espèces sont catalase-positives, uréase-négatives et acidifient la pente et le culot du milieu TSI sans dégager de H<sub>2</sub>S. *Listeria* spp. fermentent le dextrose, l'esculine et le maltose et certaines espèces fermentent également le mannitol, le rhamnose et le xylose et acidifient ainsi les milieux. *Listeria* spp. montre aussi une réaction +/- dans le bouillon RM-VP. *L. grayi* et *L. murrayi* sont les deux seules espèces à fermenter le mannitol alors que *L. murrayi* est la seule espèce à réduire les NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Il est à noter qu'il a été proposé que *L. grayi* et *L. murrayi* soient considérées comme appartenant à la même espèce (8.10).

*L. monocytogenes* et *L. ivanovii* hémolysent les géloses au sang de cheval et de mouton alors que *L. seeligeri* est faiblement hémolytique. Les trois espèces donnent une réaction positive à l'épreuve de CAMP. *L. monocytogenes* est la seule des trois espèces qui ne fermentent pas le xylose mais qui est rhamnose-positives. L'épreuve de CAMP permet de distinguer *L. ivanovii* de *L. seeligeri*, puisque *L. seeligeri* produit une zone d'hémolyse prononcée uniquement à proximité de la strie de *Staphylococcus* alors que *L. ivanovii* produit une zone d'hémolyse prononcée à proximité de la strie de *R. equi*.

*L. innocua* se différencie de *L. monocytogenes* uniquement par son incapacité à hémolyser la gélose au sang et par un résultat négatif à l'épreuve de CAMP. Si l'épreuve de CAMP n'est pas effectuée, il est possible de confondre *L. welshimeri*, qui est rhamnose-négative, et *L. seeligeri*, qui est faiblement hémolytique.

Un sommaire des caractéristiques biochimiques et sérologiques, ainsi que de la pathogénicité des différentes espèces de *Listeria* est présenté dans les tableaux 7 et 8.

## 7. Déclaration des résultats

Le rapport d'analyse doit contenir l'information concernant la présence ou l'absence de *Listeria monocytogenes* dans la portion de l'échantillon analysé. Si d'autres espèces de *Listeria* sont isolées, cette information peut être ajoutée dans le rapport d'analyse si toutes les parties concernées s'entendent à ce sujet.

Le rapport d'analyse devrait aussi inclure toutes les informations nécessaires pour permettre de retracer les conditions d'analyse telles que l'identification de l'échantillon, la méthode utilisée ainsi que toutes déviations à la méthode ayant été effectuées et le poids en grammes ou le volume en millilitres de l'échantillon analysé. Toutes les informations pouvant avoir une influence sur les résultats analytiques doivent être incluses dans le rapport d'analyse.

## 8. Bibliographie

- 8.1 Bille, J. 2007. *Listeria* and *Erysipelothrix*. In P.R. Murray (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 9<sup>th</sup> Edition. ASM Press, pp. 474-484.
- 8.2 Santé Canada, Direction générale des Produits de Santé et des Aliments. La Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger.
- 8.3 Hitchins, A.D. 1995. *Listeria monocytogenes*. Chapitre 10. Révisé 1998. Bacteriological Analytical Manual (BAM). AOAC International. Gaithersburg, MD.
- 8.4 Lovett, J. 1987. *Listeria* isolation. Chapitre 29. Bacteriological Analytical Manual (BAM). AOAC. Arlington, Virginie.
- 8.5 Lovett, J. et A.D. Hitchins. 1988. *Listeria* isolation. Chapitre 29. Révisé le 13 octobre 1988. Bacteriological Analytical Manual (BAM). AOAC. Arlington, Virginie.
- 8.6 McClain, D. et W.H. Lee. 1988. Development of USDA-FSIS Method for Isolation of *Listeria monocytogenes* from Raw Meat and Poultry. JAOAC. 71(3):660-664.

- 8.7 McClain, D. et W.H. Lee. 1989. FSIS Method for the Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Processed Meat and Poultry Products. USDA-FSIS Laboratory Communication No. 57. Révisé le 24 mai 1989.
- 8.8 McLauchlin J. 2005. *Listeria*. In S.P. Borriello, P.R. Murray and G. Funke (ed.), Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 10<sup>th</sup> Edition. ASM Press, pp. 956-969.
- 8.9 Rocourt J. and C. Buchrieser. 2007. The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: Phylogenetic position, taxonomy and identification. In E.T. Ryser and E.H. Marth (ed.), *Listeria*, Listeriosis and Food Safety, 3<sup>rd</sup> edition. CRC Press, pp. 1-20.
- 8.10 Rocourt J., P. Boerlin, F. Grimont, Ch. Jacquélet, and J.-C. Piffaretti. 1992. Assignment of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a single species, *Listeria grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*. Int. J. Syst. Bacteriol. 42: 69-73
- 8.11 Seeliger, H.P.R. et D. Jones. 1986. The Genus *Listeria*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2. Williams and Wilkins, Baltimore. pp. 1235-1245.
- 8.12 Wagner M. and J. McLauchlin. 2008. Biology. In D. Liu (ed.), Handbook of *Listeria monocytogenes*. CRC Press, pp. 3-25.
- 8.13 Warburton, D.W., J.M. Farber, A. Armstrong, R. Caldeira, T. Hunt, S. Messier, R. Plante, N.P. Tiwari et J. Vinet. 1991. A Comparative Study of the "FDA" and "USDA" Methods for the Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods. Int. J. Food Microbiol. 13(2):105-118.
- 8.14 Warburton, D.W., J.M. Farber, A. Armstrong, R. Caldeira, N.P. Tiwari, T. Babiuk, P. LaCasse et S. Read. 1991. A Canadian Comparative Study of Modified Versions of the "FDA" and "USDA" Methods for the Detection of *Listeria monocytogenes*. J. Food Prot. 54(9):669-676.
- 8.15 Warburton, D.W., J.M. Farber, C. Powell, N.P. Tiwari, S. Read, R. Plante, T. Babiuk, P. Laffey, T. Kauri, P. Mayers, M.-J. Champagne, T. Hunt, P. LaCasse, K. Viet, R. Smando et F. Coates. 1992. Comparison of Methods for Optimum Detection of Stressed-and Low Levels of *Listeria monocytogenes*. J. Food Microbiol. 9:127-145.

**Tableau 7 : Caractéristiques distinctives des espèces du genre *Listeria*<sup>a</sup>**

Caractéristiques	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L.ivanovii</i> subsp. <i>Ivanovii</i>	<i>L.ivanovii</i> subsp. <i>Londoniensis</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. grayi</i>
Coloration de Gram	+	+	+	+	+	+	+
β-hémolyse	+	-	++ <sup>b</sup>	++	-	+	-
Production d'acide à partir du							
Mannitol	-	-	-	-	-	-	+
L-rhamnose	+	V	-	-	V	-	V
D-Xylose	-	-	+	+	+	+	-
Epreuve du CAMP							
<i>S.aureus</i>	+	-	-	-	-	+	-
<i>R.equi</i>	V	-	+	+	-	-	-
Production d'acide à partir du							
α-méthyl-d-mannoside	+	+	-	-	+	-	+
Amidon soluble	-	-	-	-	ND	ND	+
Ribose	-	-	+	-	-	-	V
N-acetyl-β-D-mannosamine	ND	ND	V	+	ND	ND	ND
Hydrolyse de l'hippurate	+	+	+	+	ND	ND	-
Production de lipase	+	-	+	+	-	+	-
Activite de l'Arylesterase	-	+	+	+	+	+	+
Reduction des nitrates	-	-	-	-	ND	ND	V

<sup>a</sup> +, 90% des souches sont positives; -, 90% des souches sont negatives; ND non déterminé; V, variable. Adapté de 8.1, 8.8, 8.9, 8.11 et 8.12.

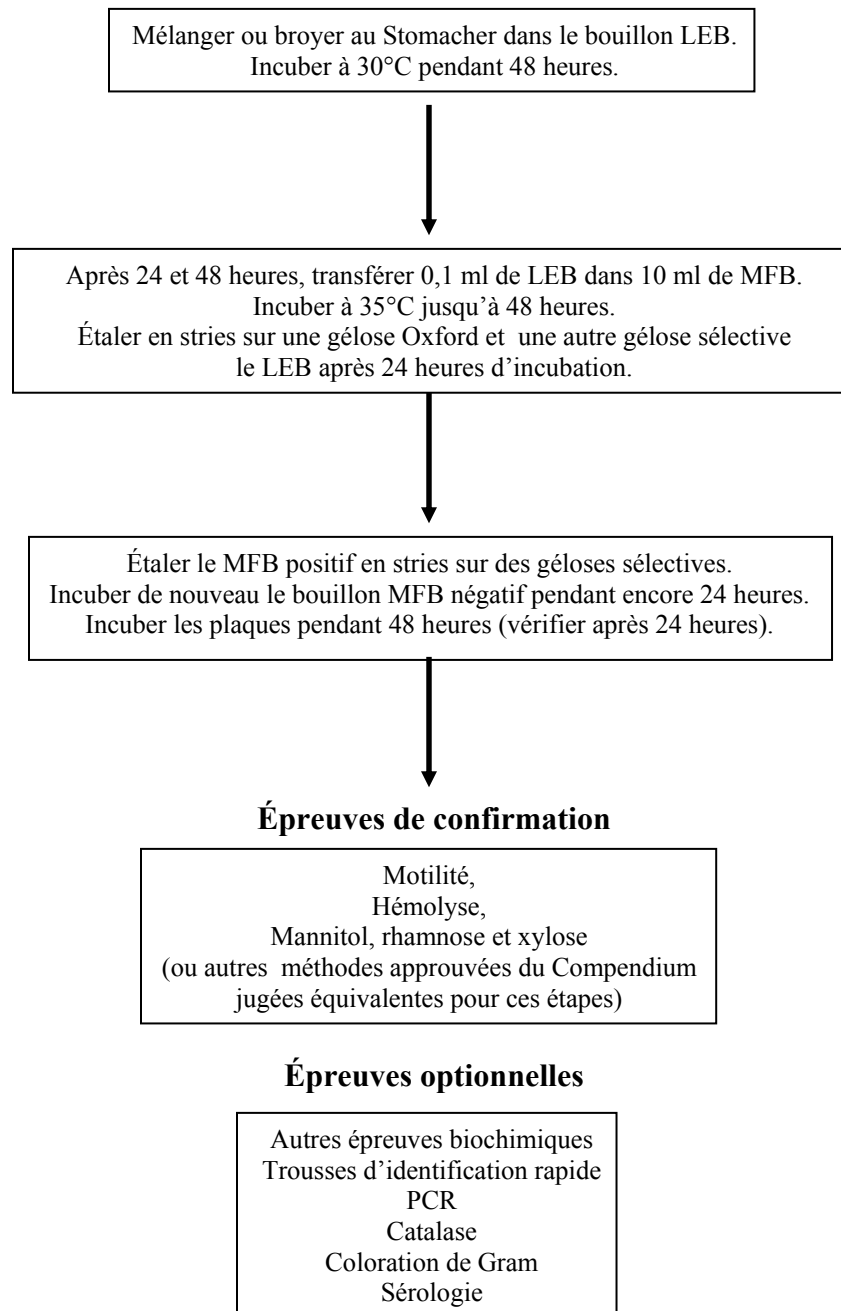
<sup>b</sup>++, habituellement une zone d'hémolyse plus large est observée.

**Tableau 8 : Sérotype, activité hémolytique et virulence pour la souris de différentes espèces de *Listeria***

Espèce	Sérotype	Hémolyse de piqûre au sang de cheval (7 %)	Virulence pour la souris
<i>L. monocytogenes</i>	1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4b(x), 4c, 4d, 4e, 7	+	+
<i>L. ivanovii</i>	5	+	+
<i>L. innocua</i>	4ab, 6a, 6b, in*	-	-
<i>L. welshimeri</i>	6a, 6b	-	-
<i>L. seeligeri</i>	1/2b, 4c, 4d, 6b, in*	+	-

\* in; indéterminé

Figure 4 : Schéma de la méthode d'isolement





Annexe E :

**NOTE :** Cette méthode remplacera la méthode MFLP-74 datée d'avril 2002 (7.1), et le Supplément à la MFLP-74, daté d'avril 2004 (7.2) dans le Compendium de méthodes de Santé Canada lorsque ce document (c.-à-d., « Politique sur la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger » sera entré en vigueur. Veuillez également noter que cette annexe sera enlevée et que la méthode (ci-bas) sera transférée officiellement dans le Compendium de méthodes de Santé Canada à cette date.

Procédure de laboratoire

MFLP-74

**Direction Générale des Produits de Santé et des Aliments**

**Ottawa**

**Dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans les aliments**

Franco Pagotto<sup>1</sup>, Yvon-Louis Trottier<sup>1</sup>, Jacqueline Upham<sup>2</sup> et Irène Iugovaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division de la recherche, Bureau de dangers microbiens, Direction des aliments, Santé Canada, Ottawa (Ontario), DGPSA, Repère postal 2204E, K1A 0K9

<sup>2</sup>Agence Canadienne d'Inspection des Aliments, Laboratoire de microbiologie, Laboratoire de Dartmouth, 1992 Agency drive, Dartmouth, NS, B3B 1Y9.

micro\_methods\_committee@hc-sc.gc.ca

**1. Application**

Cette méthode est applicable au dénombrement des *Listeria monocytogenes* viables dans les aliments, lorsqu'une détermination quantitative des *Listeriae* est requise. Cette méthode remplacera la méthode MFLP-74 datée d'avril 2002 (7.1), et le Supplément à la MFLP-74, daté d'avril 2004 (7.2).

**2. Principe**

Cette méthode d'ensemencement direct permet de déterminer quantitativement le nombre de *L. monocytogenes* viables présents dans un produit. Ainsi, une portion du produit est mélangée à un diluant approprié puis étalée sur la surface d'au moins deux géloses sélectives, lesquelles sont alors incubées pendant une période déterminée à une température donnée. On présume que dans ces conditions spécifiques, chaque cellule viable de *L. monocytogenes* se multipliera pour former une colonie visible qui peut être identifiée. Le choix des milieux sélectifs est fondé sur les résultats de travaux réalisés par d'autres chercheurs (7.3, 7.4, 7.5).

**3. Définitions des termes**

Voir l'Annexe A du volume 3 dans le Compendium de méthodes de Santé Canada.

**4. Prélèvement des échantillons**

Voir l'Annexe B du volume 3 dans le Compendium de méthodes de Santé Canada.

**5. Matériel et équipements spéciaux**

Voir la section du « Matériel et produits spéciaux » de la méthode MFHPB-30 dans le Compendium de méthodes de Santé Canada.

Voir l'annexe G dans le Compendium de méthodes de Santé Canada (volume 1) pour la composition des milieux individuels

*Autres produits nécessaires :*

- 1) Eau peptonée, 0.1 % (p/v)
- 2) Géloses d'ensemencement :

Les milieux sélectifs suivant comprennent :

- gélose d'oxford OXA (gélose obligatoire)

Une des géloses suivantes doit être incluse avec OXA :

- gélose pour *Listeria* selon Ottaviani & Agosti
- gélose A.L.
- gélose BBL Chromagar *Listeria*
- gélose Brilliance *Listeria* (Connue auparavant sous le nom de gélose OCLA)
- Milieu au chlorure de lithium, au phényléthanol et au moxalactame (LPM)
- gélose d'Oxford modifiée (MOX)
- gélose PALCAM (PAL)
- gélose Rapid L'Mono

**6. Marche à suivre**

On peut connaître la distribution des *Listeria* spp. en analysant chaque unité d'analyse séparément.

**6.1 Manipulation et dilution des échantillons**

- 6.1.1 Avant l'analyse au laboratoire, sauf dans le cas d'aliments stables à la température de la pièce, conserver les unités d'échantillonnage

réfrigérées ou congelées selon la nature du produit. Faire dégeler les échantillons congelés dans un réfrigérateur, ou pendant une période ainsi qu'à une température qui empêchent la croissance ou la mort des micro-organismes.

- 6.1.2 Analyser les unités d'échantillonnage le plus tôt possible après leur arrivée au laboratoire.
- 6.1.3 Pour s'assurer que l'unité d'analyse est représentative, agiter les liquides ou les substances fluides jusqu'à ce qu'elles soient homogènes. Si l'unité d'échantillonnage est un solide, constituer l'unité d'analyse en prélevant des portions à plusieurs endroits de l'unité d'échantillonnage. L'unité d'analyse recommandée est de 10 grammes ou 10 ml.

## 6.2 Méthode par ensemencement direct

- 6.2.1 Préparer une dilution de 1:5, dans de l'eau peptonée à 0,1 % (p/v), dans une jarre de mélangeur ou un sac à stomacher. Bien mélanger au mélangeur ou au stomacher pour deux minutes afin d'obtenir un mélange homogène. Une dilution de 1:10 peut-être utilisée pour les aliments qui requièrent une dilution supérieure dans le but de permettre un meilleur étalement du mélange aliment/diluant sur les géloses sélectives. Ceci peut nécessiter l'ensemencement d'un aliquot supplémentaire sur des géloses additionnelles.

Deux types de géloses sont utilisées pour l'énumération de *L. monocytogenes* de la façon suivante: prélever immédiatement 1 ml du mélange en prélevant trois portions de 0,333 ml de l'aliment dilué et l'étaler sur la surface de trois pétris de chaque gélose sélective (p. ex., un total de deux ml est étalé sur deux types de géloses). Les milieux sélectifs comprennent la gélose OXA ainsi que l'un des milieux approuvés énumérés à la section 5.

- 6.2.2 Incuber la gélose LPM à 30°C et toutes les autres géloses sélectives à 35°C pour 48h. Examiner les pétris après 24 h d'incubation pour déceler les colonies ayant une apparence typique, à moins d'instruction contraire de la part du manufacturier (sections 6.3.1 à 6.3.4).

**NOTE :**

1. **S'assurer que les géloses soient soigneusement séchées avant leur utilisation afin d'éviter l'étalement exagéré des colonies. Après l'étalement en surface de l'aliquot, s'assurer que les géloses soient sèches avant de les inverser et de les déposer dans l'incubateur.**
2. **On peut utiliser des géloses chromogéniques et d'autres nouvelles géloses d'isolement, mais seulement de concert avec le milieu obligatoire et l'un des milieux recommandés à la Section 5. Trois pétris de chaque milieu chromogénique non validé doivent être utilisés de la même façon que les géloses énumérées à la Section 5.**
3. **Pour permettre une certaine flexibilité au niveau des périodes d'incubation, les directives suivantes peuvent être utilisées: période d'incubation de 24h +/- 2 h ou 48h +/- 4 h.**

### 6.3 Identification présumée

- 6.3.1 **Géloses OXA et MOX** – Après 24 heures, *L. monocytogenes* forme des colonies noires d'un diamètre de 1 mm entourées d'un halo noir. Après 48 heures, les colonies ont de 2 à 3 mm de diamètre et sont noires, avec un halo noir et un centre affaissé. Les colonies peuvent aussi apparaître brun-noir ou vert-noir. D'autres espèces de *Listeria* présentent un aspect semblable. Si l'on examine les boîtes moins de 24 heures après le début de l'incubation, on peut parfois déceler des colonies de *Listeria* spp. mais sans le noircissement caractéristique. Certaines souches de *Listeria*, autres que *L. monocytogenes*, sont inhibées par ce milieu lorsqu'il est incubé à 35°C.
- 6.3.2 **Gélose LPM** – Pour repérer les colonies suspectes sur les géloses LPM, examiner les boîtes à l'aide d'un faisceau de lumière blanche assez puissant pour bien éclairer la gélose, orienté à un angle de 45° avec le fond de la boîte (7.6). Si la transillumination est optimale, les colonies de *Listeria* les plus isolées et les plus grosses (âgées de 48 heures) apparaissent comme des amas blanchâtres de verre pilé présentant souvent des structures internes en mosaïque et, parfois, des reflets iridescents bleu-gris qui ont tendance à scintiller. Les colonies peuvent aussi apparaître lisses et bordées de bleu. Lorsque la croissance est presque confluite, on peut observer un reflet bleu-gris iridescent et homogène.

- 6.3.3 **Gélose PAL** – Les colonies de *L. monocytogenes* mesurent environ 2 mm de diamètre et ont une coloration gris-vert. Elles présentent un centre noir et affaissé et un halo noir sur fond rouge cerise. Certaines souches d'*Enterococcus* et de *Staphylococcus* forment des colonies grises entourées d'un halo brun-vert, ou des colonies jaunes entourées d'un halo jaune.
- 6.3.4 **Gélose Listeria selon Otaviani & Agosti**– Les colonies de *Listeria* sont bleu-vert, *L. monocytogenes* et *L. ivanovii* forment des colonies bleu-vert entourées d'un halo blanc opaque. Après 24 heures, les autres espèces *Listeria* forment des colonies bleu-vert SANS halo. Consulter la notice d'utilisation du manufacturier pour une description plus détaillée.
- 6.3.5 **Gélose A.L.** - Toutes les espèces de *Listeria* forment des colonies bleues à bleu-vert, les colonies de *L. monocytogenes* et de *L. ivanovii* forment des halos opaques autour des colonies après 24 et 48 heures respectivement.
- 6.3.6 **BBL CHROMagar** - *L. monocytogenes* et *L. ivanovii* forment des colonies bleu-vert entourées d'un halo blanc opaque. Les autres espèces de *Listeria* forment des colonies bleu-vert sans halo.
- 6.3.7 **Gélose Brillance Listeria (autrefois gélose OCLA)** - *L. monocytogenes* et *L. ivanovii* forment des colonies bleues entourées d'un halo opaque, alors que les autres espèces de *Listeria* forment des colonies bleues sans la présence d'un halo après 24 h.
- 6.3.8 **RAPID L. Mono** - *L. monocytogenes* forme des colonies bleues sans halo jaune alors que *L. ivanovii* forme des colonies bleu-verdâtre avec un halo jaune. Toutes les autres espèces de *Listeria* sont d'une couleur jaune à blanche.

#### 6.4 **Dénombrement et confirmation des colonies obtenues par ensemencement direct**

- 6.4.1 Rechercher les colonies typiques dans chaque ensemble de géloses en triple de chacun des deux milieux sélectifs utilisés. Puisqu'il est attendu que les *Listeriae* seront présents en faible nombre, chaque colonie doit être confirmée avant de rapporter le résultat, jusqu'à 15 colonies par type de gélose.
- 6.4.2 Confirmer qu'il s'agit de *L. monocytogenes* en appliquant la marche à suivre décrite dans la méthode MFHPB-30 (7.7, 7.8). Si les colonies ne sont pas bien isolées, purifier jusqu'à 15 colonies par type de gélose, en les ensemençant en stries sur des géloses TA. Incuber les géloses à 30°C pendant 24 h ou 48 h, jusqu'à croissance satisfaisante.

**NOTE:** Au minimum, toutes les colonies jusqu'à 15 par type de gélose doivent être confirmées avant de reporter le résultat tel que décrit à la section 6.5

## 6.5 Interprétation

- 6.5.1 Consigner séparément les résultats de chacun des deux types de milieu sélectif. Calculer les Unités Formant Colonies (UFC) par g (ou ml) en utilisant l'équation suivante:

Nombre de UFC

---

Volumeensemencé (ml) x facteur de dilution total

Exemple:

Une dilution de 1:5 d'une matrice alimentaire est effectuée. Un (1) ml de la suspension est étalé sur trois géloses OXA et 1 ml sur trois géloses PAL. Après incubation, la somme totale pour chaque gélose OXA est de 5 colonies et la somme totale des géloses PAL est de 15 colonies.

Utilisant l'équation ci-dessus:

5 colonies

---

1(volume inoculé, ml) x 0.2 (facteur de dilution)

= **25 UFC/g**

De même pour les géloses PAL

15 colonies

---

1(volume inoculé, ml) x 0.2 (facteur de dilution)

= **75 UFC/g**

Le compte final suivant est rapporté = 75 UFC/g  
(Notez que seulement le compte le plus élevé est rapporté)

**NOTE:** Lorsque possible, le compte exact devrait être rapporté. D'autres options, considérations ou suggestions utiles sont présentées ci-dessous

- a:** S'il n'y a aucune colonie à la dilution 1:5, rapporter comme étant < 5 UFC/g de *L. monocytogenes*. Si aucune colonie n'est récupérée à une dilution de 1:10, rapporter comme étant <10 UFC/g de *L. monocytogenes*.
- b:** Si plus de 200 colonies typiques apparaissent sur chaque type de gélose, l'échantillon alimentaire peut être analysé à nouveau en utilisant une dilution supérieure (c.-à-d., 1:50 ou 1:100) afin de permettre un dénombrement plus précis. Cette situation peut survenir lors d'une éclosion ou lors d'une contamination massive d'une denrée alimentaire.
- c:** Toujours utiliser le type de gélose avec le plus grand nombre de colonies récupérées pour calculer le compte final en UFC/g ou UFC/ml.
- d:** Dans l'exemple de calcul précédent, s'il y a plus de 20 colonies présumées par type de gélose, 5 colonies typiques par pétri (jusqu'à un total de 15 colonies) devraient être confirmées comme étant représentatives de la population des colonies présumées. Lorsque confirmées, un ratio peut être appliqué sur toutes les colonies comptées. Par exemple, si 75 colonies présumées sont comptées et que les 15 sélectionnées sont confirmées comme étant *L. monocytogenes*, alors le compte utilisé est de 75 *L. monocytogenes*, pour un compte final rapporté de 375 UFC/ml; de la même façon, si seulement 3 des 15 sont confirmées comme étant *L. monocytogenes*, le compte sera de  $75 \times 3/15 = 15$  *L. monocytogenes*, pour un compte final rapporté de 75 UFC/ml.

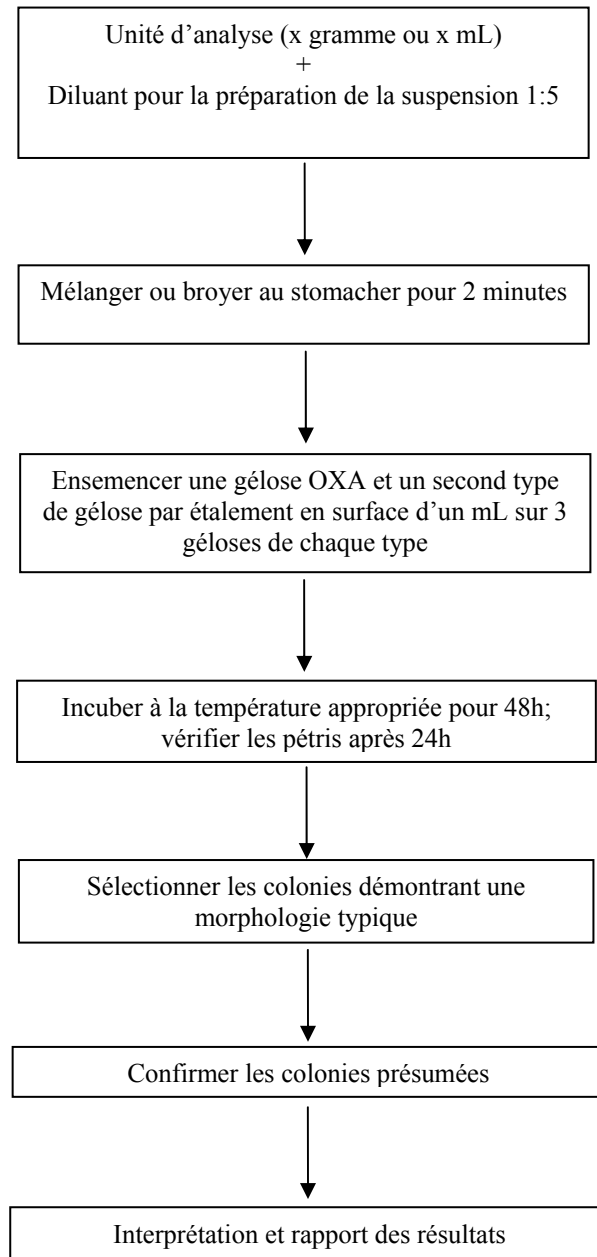
## 7. Références

- 7.1** Pagotto, F., E. Daley, Farber, J.M. 2002. Dénombrement de *listeria monocytogenes* dans les aliments (MFLP-74). *Compendium de méthodes*, volume 3. Disponible sur <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume3/mflp74-fra.php>
- 7.2** Supplement à la methode MFLP-74. 2004. *Compendium de méthodes*, volume 3. Disponible sur : <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume3/mflp74-sup-fra.php>
- 7.3** Poysky, F.T., R.N. Paranjpye, L.C. Lashbrook, M.E. Peterson, G.A. Pelroy et M.W. Eklund. 1993. Selective and differential medium for isolation of *Listeria monocytogenes* from foods. *J. Food Prot.* **56**:326-329, 332.



- 7.4 Warburton, D.W., J.M. Farber, A. Armstrong, R. Caldeira, T. Hunt, S. Messier, R. Plante, N.P. Tiwari et J. Vinet. 1991. A comparative study of the "FDA" and "USDA" methods for the detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *Int. J. Food Microbiol.* **13**:105-118.
- 7.5 Warburton, D.W., J.M. Farber, A. Armstrong, R. Caldeira, N.P. Tiwari, T. Babiuk, P. LaCasse et S. Read. 1991. A Canadian comparative study of modified versions of the "FDA" and "USDA" methods for the detection of *Listeria monocytogenes*. *J. Food Prot.* **54**:669-676.
- 7.6 American Public Health Association (APHA). 2001. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Quatrième édition. Chapitre 35. F.P. Downes et K. Ito (éditeurs), American Public Health Association, Washington, D.C.
- 7.7 Pagotto, F., E. Daley, J. Farber et D. Warburton. 2001. Isolement de *Listeria monocytogenes* dans tous les types d'aliments et les échantillons environnementaux (MFHPB-30). *Compendium de méthodes*, volume 2. Disponible sur : <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume2/mfhp30-01-fra.php>
- 7.8 Supplément à la méthode MFHPB-30, 2002. *Compendium de méthodes*, volume 2. Disponible sur : <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume2/mfhp30-sup-fra.php>

Figure 5 : Schéma de la procédure d'énumération



## Références

**Abelson, P., Potter Forbes, M., Hall, G.** (2006). The annual cost of foodborne illness in Australia. Site Web : [http://www.ozfoodnet.gov.au/internet/ozfoodnet/publishing.nsf/Content/137D93E765468F17CA2572130080B157/\\$File/cost-foodborne.pdf](http://www.ozfoodnet.gov.au/internet/ozfoodnet/publishing.nsf/Content/137D93E765468F17CA2572130080B157/$File/cost-foodborne.pdf) (consulté le 31 août, 2010).

**ACMSF** (Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food). (2009). Report on the increased incidence of listeriosis in the UK. Ad Hoc Group on Vulnerable Groups. Site Web : <http://www.food.gov.uk/news/newsarchive/2009/sep/acmsflisteria> (consulté le 27 août 2010).

**ACIA** (Agence canadienne d'inspection des aliments). (2009a). Directive de l'hygiène des viandes : 2009-1. Chapitre 5. Mesures de contrôle visant *Listeria* en ce qui a trait aux produits de viande prêts-à-manger (PAM). Site Web : <http://www.inspection.gc.ca/francais/fssa/meavia/man/direct/2009/direct1f.shtml> (consulté le 27 août 2010).

**ACIA** (Agence canadienne d'inspection des aliments). (2009b). Communication personnelle.

**ASPC** (Agence de la santé publique du Canada). (2007). Plan stratégique de l'Agence de la santé publique du Canada : 2007-2012, Information, Savoir, Action. Site Web : <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/2007/sp-ps/index-fra.php> (consulté le 27 août 2010).

**ASPC** (Agence de la santé publique du Canada). (2009a). Rapport annuel de C-EnterNet 2007.

**ASPC** (Agence de la santé publique du Canada). (2009b). Données non publiées.

**ASPC** (Agence de la santé publique du Canada). (2009c). Communication personnelle. Base de données des maladies à déclaration obligatoire.

**ASPC** (Agence de la santé publique du Canada). (2009d). Éclosion de la bactérie *Listeria monocytogenes*. Site Web : [http://www.phac-aspc.gc.ca/alert-alerte/listeria/listeria\\_2009-fra.php](http://www.phac-aspc.gc.ca/alert-alerte/listeria/listeria_2009-fra.php) (consulté le 31 août 2010).

**ASPC** (Agence de la santé publique du Canada). (2010). Mise à jour du nombre de cas de *Listeria monocytogenes* en 2008. Site Web : [http://www.phac-aspc.gc.ca/alert-alerte/listeria/listeria\\_20100413-fra.php](http://www.phac-aspc.gc.ca/alert-alerte/listeria/listeria_20100413-fra.php) (consulté le 27 août 2010).

**Anonyme.** (1985). Epidemiologic notes and reports Listeriosis outbreak associated with Mexican-style cheese – California. CDC-MMWR, vol. 34, p. 357-359. Site Web : <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00000562.htm>.

**Anonyme.** (1998). Multistate outbreak of listeriosis – United States, 1998. CDC-MMWR, vol. 47, p. 1085-1086. Site Web : <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00056024.htm>.

**Anonyme.** (1999a). Multistate outbreak of listeriosis – United States, 1998-1999. CDC-MMWR, vol. 47, p. 1117.

**Anonyme.** (1999b). *Listeria* cases linked to pâté. Westchester County Department of Health. Site Web : <http://www.westchestergov.com/health/PR991230.htm> (consulté le 27 août 2010).

**Anonyme.** (2002). Public Health Dispatch: Outbreak of listeriosis – Northeastern United States, 2002. CDC-MMWR, vol. 51, p. 950-951. Site Web : <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5142a3.htm>.

**Aureli, P., Fiorucci, G.C., Caroli, D., Marchiaro, G., Novara, O., Leone, L. et S. Salmaso.** (2000). An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *N. Eng. J. Med.*, vol. 342, p.1236-1241.

**Baker, M., Brett, M., Short, P., Calder, L. et R. Thornton.** (1993). Listeriosis and mussels. *CDNZ*, vol. 93, p.12-15.

**Beuchat, L.R. et R.E. Brackett.** (1990). Inhibitory effects of raw carrots on *Listeria monocytogenes*. *App. Environ. Microbiol.*, vol. 56, p. 1734-1742.

**Bille, J.** (1990). Epidemiology of human listeriosis in Europe, with special reference to the Swiss outbreak. Dans : *Foodborne listeriosis*. Miller, A.J., Smith J.L., et Somkuti G.A. (éditeurs), Society for Industrial Microbiology, Elsevier Science Publishing Inc., New York.

**Bille, J., Blanc, D.S., Schmid, H., Boubaker, K., Baumgartner, A., Siegrist, H.H., Tritten, M.L., Lienhard, R., Berner, D., Anderau, R., Treboux, M., Ducommun, J.M., Malinverni, R. Genné, D, Erard, P.H. et U. Waespi.** (2006). Outbreak of human listeriosis associated with Tomme cheese in Northwest Suisse, 2005. *Euro. Surveill.*, vol. 11, p. 91-93. Site Web : <http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EQ/v06n02/v06n02.pdf> (consulté le 27 août 2010).

**Boggs, J.D., Whitwam, R.E., Hale, L.M., Briscoe, R.P., Kahn, S.E., MacCormack, J.N., Maillard, J-M., Grayson, S.C., Sigmon, K.S., Reardon, J.W., Saah, J.R. et EIS officers, CDC.** (2001). Outbreak of listeriosis associated with homemade Mexican-style cheese - North Carolina, October 2000 – January 2001. CDC-MMWR, vol. 50, p. 560-562. Site Web : <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5026a3.htm>; aussi dans *J. Am. Med. Asso.*, vol. 286, n° 6, p. 664-665.

**Brett, M.S.Y., Short, P. et J. McLauchlin.** (1998). A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels. *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 43, p. 223-229.

**Büla, C., Bille, J. et M.P. Glauser.** (1995). An epidemic of food-borne listeriosis in western Suisse: Description of 57 cases involving adults. *Clin. Infect. Dis.* vol. 20, p. 66-72.

**Carriedo, G.** (2003). Mexican cheese may cause listeriosis. News release from the city of Laredo Health Department. Available at: <http://www.ci.laredo.tx.us/health/News/08-20-03MexicanCheese/Mexican%20Cheese.htm> (consulté le 27 août 2010).

**Carrique-Mas, J.J., Hökeberg, I., Andersson, Y., Arneborn, M., Tham, W., Danielsson-Tham, M.-L., Osterman, B., Leffler, M., Steen, M., Eriksson, E., Hedin, G. et J. Giesecke.** (2003). Febrile gastroenteritis after eating on-farm manufactured fresh cheese - an outbreak of listeriosis? *Epidemiol. Infect.*, vol. 130, p. 79-86.

**Chen, Y., Ross, W.H., Scott, V.N. et D.E. Gombas.** (2003). *Listeria monocytogenes*. Low levels equal low risk. *J. Food Prot.*, vol. 66, p. 570-577.

**Clark, C. G., Farber, J., Pagotto, F., Ciampa, N., Doré, K., Nadon, C., Bernard, K., Ng, L.-K. et le RLSPC.** (2010). Surveillance for *Listeria monocytogenes* and listeriosis, 1995-2004. *Epidemiol. Infect.*, vol. 138, p. 559-572.

**CCA (Commission du Codex Alimentarius).** (2007). Directive pour l'application des principes généraux d'hygiène des denrées alimentaires à la maîtrise de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-consommer. Appendice I: Recommandations pour un programme de contrôle de l'environnement pour le *Listeria monocytogenes* dans les zones de transformation. CAC/GL 61-2007. Site Web : [http://www.codexalimentarius.net/web/more\\_info.jsp?id\\_sta=10740](http://www.codexalimentarius.net/web/more_info.jsp?id_sta=10740) (consulté le 27 août 2010).

**CCA (Commission du Codex Alimentarius).** (2009a). Avant-projet de critères microbiologiques relatifs à la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-consommer. - Alinorm 09/32/13 - Appendice II - Etape 5-. Site Web : <http://www.codexalimentarius.net/web/archives.jsp?year=09> (consulté le 27 août 2010).

**CCA (Commission du Codex Alimentarius).** (2009b). Food Hygiene Basic texts, 4th edition. Code d'usage international recommandé – principes généraux d'hygiène alimentaire – CAC/RCP 1-1969, Rev. 4 (2003) – Section II – Champ d'application, utilisation et définitions.

**Communautés européennes.** (2007). Règlement (CE) No. 1441/2007 du 5 décembre 2007 modifiant le règlement (CE) No 2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. *Journal officiel de l'Union européenne*, vol. L322/12.

**Compendium de méthodes.** Site Web : <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/index-fra.php> (consulté le 27 août 2010).

**Cumming, M., Kludt, P., Matyas, B, DeMaria, A., Stiles, T., Han, L., Gilchrist, M., Neves, P, Fitzgibbons, E. et S. Condon.** (2008). Outbreak of *Listeria monocytogenes* infections associated with pasteurized milk from a local dairy – Massachusetts, 2007. CDC-MMWR, vol. 57, p. 1097-1100. Site Web : <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5740a1.htm>.

**Dalton, C. B., Austin, C., Sobel, J., HaOUI, P.S., Bibb, W. F., Graves, L.M., Swaminathan, B., Proctor, M.E. et P.M. Griffin.** (1997). An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *N. Engl. J. Med.*, vol. 336, p. 100-105.

**D’Amico, D.J. et C.W. Donnelly.** (2008). Enhanced detection of *Listeria* spp. in farmstead cheese processing environments through dual primary enrichment, PCR, and molecular subtyping. *J. Food Prot.*, vol. 71, p. 2239-2248.

**Danielsson-Tham, M.-L., Eriksson, E., Helmersson, S., Leffler, M., Lüdtke, L., Steen, M, Sørgerd, S. et W. Tham, W.** (2004). Causes behind a human cheese-borne outbreak of gastrointestinal listeriosis. *Foodborne Pathog. Dis.*, vol. 1, p. 153-159.

**Dawson, S.J., Evans, M.R.W., Willby, D., Bardwell, J., Chamberlain, N. et D.A. Lewis.** (2006). *Listeria* outbreak associated with sandwich consumption from a hospital retail shop, United Kingdom. *Eur. Surveill.*, vol. 11, p. 89-91. Site Web : <http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EQ/v06n02/v06n02.pdf> (consulté le 27 août 2010).

**de Valk, H., Vaillant, V., Jacquet, C., Rocourt, J., Le Querrec, F., Stainer, F., Quelquejeu, N., Pierre, O., Pierre, V., Desenclos, J.-C. et V. Goulet.** (2001). Two consecutive nationwide outbreaks of listeriosis in France, October 1999-February 2000. *Am. J. Epidemiol.*, vol. 154, p. 944-950.

**Direction générale de la santé et des consommateurs de l’Union européenne** (anglais : European Commission Health et Consumer Protection Directorate-General). (1999). Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on *Listeria ite* . Site Web : [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out25\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out25_en.pdf) (consulté le 27 août 2010).

**Dorozynski, A.** (2000). Seven die in French listeria outbreak. *Br. Med. J.*, vol. 320, p. 601.

**Ericsson, H., Eklow, A., Danielsson-Tham, M.-L., Loncarevic, S., Mentzing, L.-O., Persson I., Unnerstad, H. et W. Tham.** (1997). An outbreak of listeriosis suspected to have been caused by rainbow trout. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 35, p. 2904-2907.

**Farber, J.M. P.I. Peterkin.** (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.*, vol. 55, p. 476-511.

**Farber, J.M. et P.I. Peterkin.** (2000). *Listeria monocytogenes*. Chapter 44. In: *Microbiology of Food*. B. Lund, A. Baird-Parker et coll. (Eds.). Chapman et Hall. London, UK, p. 1178-1232.

**Farber, J.M., Daley, E.M., Mackie, M.T. et B. Limerick.** (2000). A small outbreak of listeriosis potentially linked to the consumption of imitation crab meat. *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 31, p. 100-104.

**Fleming, D.W., Cochi, S.L., MacDonald, K.L., Brondum, J., HaOUI, P.S., Plikaytis, B.D., Holmes, M.B., Audurier, A., Broome, C.V. et A.L. Reingold.** (1985). Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *N. Engl. J. Med.*, vol. 312, p. 404-407.

**FAO/OMS** (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture et l'Organisation mondiale de la santé). (2004a). Avant-projet de directives pour l'application de principes généraux d'hygiène alimentaire à la [maîtrise] du *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-consommer . Site Web : [ftp://ftp.fao.org/codex/ccfh37/fh37\\_05f.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/ccfh37/fh37_05f.pdf) (consulté le 27 août 2010).

**FAO/OMS** (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture et l'Organisation mondiale de la santé). (2004b). Évaluation des risques présentés par *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-consommer . Site Web : [http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra4\\_fr.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/mra4_fr.pdf) (consulté le 27 août 2010).

**FDA/FSIS** (Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, U.S. Department of Health and Human Services and Food Safety and Inspection Service, U.S. Department of Agriculture). (2003). Quantitative assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. Web : <http://www.regulations.gov/search/Regs/home.html#documentDetail?R=0900006480828fda> (consulté le 27 août 2010).

**Fretz, R., Sagel, U., Ruppitsch, W., Pietzka, A.T., Stöger, A., Huhulescu, S., Heuberger, S., Pichler, J., Much, P., Pfaff, G., Stark, K., Prager, R., Flieger, A., Feenstra, O. et Allerberger, F.** (2010a). Listeriosis outbreak caused by acid curd cheese “Quargel”, Austria and Germany 2009. *Euro. Surveill.*, 15 : 19477. Site Web : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19477> (consulté le 27 août 2010).

**Fretz, R., Pichler, J., Sagel, U., Much, P., Ruppitsch, W., Pietzka, A.T., Stöger, A., Huhulescu, S., Heuberger, S., Appl, G., Werber, D., Stark, K., Prager, R., Flieger, A., Karpíšková, R., Pfaff, G. et Allerberger, F.** (2010b). Mise à jour : Multinational listeriosis outbreak due to “Quargel”, a sour milk curd cheese, caused by two different *L. monocytogenes* serotype 1/2a strains, 2009-2010. *Euro. Surveill.*, 15 : 19543. Site Web : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19543> (consulté le 27 août 2010).



**Frye, D.M., Zweig, R., Sturgeon, J., Tormey, M., LeCavalier, M., Lee, I., Lawani, L. et L. Mascola.** (2002). An outbreak of febrile gastroenteritis associated with delicatessen meat contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Clin. Infect. Dis.*, vol. 35, p. 943-949.

**Gaulin, C., Ramsay, D., Ringuette, L. et J. Ismaïl.** (2003). First documented outbreak of *Listeria monocytogenes* in Quebec, 2002. *Can. Commun. Dis. Rep.*, vol. 29, p. 181-186. Site Web : <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/03vol29/rm2921fa.html>

**Gillespie, IA., McLauchlin, J., Grant, K.A., Little, C.L., Mithani, V., Penman, C., Lane, C. et M. Regan.** (2006). Changing pattern of human listeriosis, England and Wales, 2001-2004. *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 12, p. 1361-1366.

**Gombas, D.E., Chen, Y., Clavero, R.S. et V.N. Scott.** (2003). Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *J. Food Prot.*, vol. 66, p. 559-569.

**Gottlieb, S.L., Newbern, E.C., Griffin, P.M., Graves, L.M., Hoekstra, R.M., Baker, N.L., Hunter, S.B., Holt, K.G., Ramsey, F., Head, M., Levine, P., Johnson, G., Schoonmaker-Bopp, D., Reddy, V., Kornstein, L., Gerwel, M., Nsubuga, J., Edwards, L., Stonecipher, S., Hurd, S., Austin, D., Jefferson, M.A., Young, S.D., Hise, K., Chernak, E.D., Sobel, J. et le Listeriosis Outbreak Working Group.** (2006). Multistate outbreak of listeriosis linked to turkey deli meat and subsequent changes in US regulatory policy. *Clin. Infect. Dis.*, vol. 42, p. 29-36.

**Goulet, V., Lepoutre, A., Rocourt, J., Courtieu, A.-L., Dehaumont, P. et P. Veit.** (1993). Épidémie de listériose en France – Bilan final et résultats de l'enquête épidémiologique. *Bull. Epidémiol. Heb.*, vol. 4, p. 13-14.

**Goulet, V.** (1995). Investigation en cas d'épidémie de listériose. *Méd. Mal. Infect.*, vol. 25, p. 184-190.

**Goulet, V., Jacquet, C., Vaillant, V., Rebière, I., Mouret, E., Lorente, C., Maillot, E., Stainer, F. et J. Rocourt.** (1995). Listeriosis from consumption of raw-milk cheese. *Lancet*, vol. 345, p. 1581-1582.

**Goulet, V., Rocourt, J., Rebiere, I., Jacquet, C., Moyse, C., Dehaumont, P., Salvat, G. et P. Veit.** (1998). Listeriosis outbreak associated with the consumption of rillettes in France in 1993. *J. Inf. Dis.*, vol. 177, p. 155-160.

**Goulet, V., Hedberg, C., Le Monnier, A. et H. de Valk.** (2008). Increasing incidence of listeriosis in France and other European Countries. *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 14, p. 734-740.

**Gouvernement du Canada.** (2010a). *Loi sur les aliments et drogues*. Site Web : <http://laws.justice.gc.ca/fra/F-27/2009/index.html> (consulté le 27 août 2010).

**Gouvernement du Canada.** (2010b). *Règlement sur les aliments et drogues*. Site Web : <http://laws.justice.gc.ca/fra/C.R.C.-ch.870/index.html> (consulté le 27 août 2010).

**Houben, J.H. et F. Eckenhausen.** (2006). Surface pasteurization of vacuum-sealed precooked ready-to-eat meat products. *J. Food Prot.*, vol. 69, p. 459-468.

**Huang, L et J. Sites.** (2008). Elimination of *Listeria monocytogenes* on hotdogs by infrared surface treatment. *J. Food Sci.*, vol. 73, p. M27-M31.

**Hurd, S., Phan, Q., Hadler, J., Mackenzie, B., Lance-Parker, S., Blake, P., Deasy, M., Rankin, J., Frye, D., Lee, I., Werner, B., Bugia, D., Bidol, S., Stoltman, G., Boulton, M., Widemann, M., Kornstein, L., Reddy, S., Mojica, B., Guido, F., Huang, A., Vincent, C., Bugenhagen, A., Corby, J., Carloni, E., Holcomb, M., Kondracki, S., Woron, R., Zansky, S., Smith, P., Dowdle, G., Nichols, C., Smith, F., Gerber, D., Jones, T., Moore, W., Ahrabi-Fard, S. et J. Davis.** (2000). Multistate outbreak of listeriosis – United States, 2000. *CDC-MMWR*, vol. 49, p. 1129-1130. Site Web : <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm4950a1.htm>.

**ICMSF** (Commission internationale pour la définition des caractéristiques microbiologiques des aliments). (1996). *Listeria monocytogenes*. Dans : *Microorganisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens*, Blackie Academic & Professional, London (ISBN 0412 47350 X), p. 141-182.

**Industrie des viandes** (Conseil des viandes du Canada, Conseil canadien des transformateurs d'œufs et de volailles, Association canadienne des transformateurs de volailles et North American Meat Processors) **Groupe de travail sur *Listeria monocytogenes***. (2010). « Meilleures pratiques industrielles » pour le contrôle de *Listeria monocytogenes*. Publication à venir.

**Jacquet, C., Catimel, B., Brosch, R., Buchrieser, C., Dehaumont, P., Goulet, V., Lepoutre, A., Veit, P. et J. Rocourt.** (1995). Investigations related to the epidemic strain involved in the French listeriosis outbreak in 1992. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 61, p. 2242-2246.

**Jacquet, C., Saint-Clément, C., Brouille, F., Catimel, B et J. Rocourt.** (1998). La listériose humaine en France en 1997. Données du Centre National de Référence des *Listeria*. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, vol. 33, p. 142-143.

**Jensen, A., Frederiksen, W. et P. Gerner-Smidt.** (1994). Risk factors for listeriosis in Denmark, 1989-1990. *Scand. J. Infect. Dis.*, vol. 26, p. 171-178.

**Kittson, E.** (1992). A case cluster of listeriosis in Western Australia with links to pâté consumption. In: Proceedings of the 11<sup>th</sup> International symposium on the problems of listeriosis, Copenhagen, Denmark, p. 39-40.

**Linnan, M.J., Mascola, L., Dong Lou, X., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, M.L., Hayes, P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytis, B.D., Fannin, S.L., Kleks, A. et C.V. Broome.** (1988). Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *N. Eng. J. Med.*, vol. 319, p. 823-828.

**Little, C.L., Sagoo, S.K., Gillespie, I. A., Grant, K. et J. McLauchlin.** (2009). Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* et other *Listeria* species in selected retail ready-to-eat foods in the United Kingdom. *J. Food Prot.*, vol. 72, p. 1869-1877.

**Lundén, J., Tolvanen, et H. Korkeala.** (2004). Human listeriosis outbreaks linked to dairy products in Europe. *J. Dairy Sci.*, vol. 37, suppl. E, p. E6-E11.

**Lyytikäinen, O., Autio, T, Maijala, R., Ruutu, P, Honkanen-Buzalski, T, Miettinen, M., Hatakka, M., Mikkola, J., Anttila, V-J., Johansson, T., Rantala, L., Aalto, T., Korkeala, H. et A. Siitonen.** (2000). An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. *J. Infect. Dis.*, vol. 181, p. 1838-1841.

**MacDonald, P.D.M., Whitwam, R.E., Boggs, J.D., MacCormack, J.N., Anderson, K.L., Reardon, J. W., Saah, J.R., Graves, L.M., Hunter, S.B. et J. Sobel.** (2005). Outbreak of listeriosis among Mexican immigrants as a result of consumption of illicitly produced Mexican-style cheese. *Clin. Infect. Dis.*, vol. 40, p. 677-682.

**Makino, S.-I., Kawamoto, K., Takeshi, K., Okada, Y., Yamasaki, M., Yamamoto, S. et S. Igimi.** (2005). An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japon, during 2001. *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 104, p. 189-196.

**McLauchlin, J.** (1993). Listeriosis and *Listeria monocytogenes*. *Environ. Policy and Practice*, vol. 3, p. 201-214.

**McLauchlin, J., Hall, S.M., Velani, S.K., et R.J. Gilbert.** (1991). Human listeriosis and pâté – a possible association. *Br. Med. J.*, vol. 303, p. 773-775.

**McLauchlin, J., Mitchell, R.T., Smerdon, W.J. et K. Jewell.** (2004). *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 92, p. 15-33.

**Mead, P.S., Dunne, E.F., Graves, L., Wiedmann, M., Patrick, M., Hunter, S., Salehi, E., Mostashari, F., Craig, A., Mshar, P., Bannerman, T., Sauders, B.D., HaOUI, P., Dewitt, W., Sparling, P., Griffin, P., Morse, D., Slutsker, L. et B. Swaminathan, B. pour le Listeria Outbreak Working Group.** (2006). Nationwide outbreak of listeriosis due to contaminated meat. *Epidemiol. Infect.*, vol. 134, p. 744-751.

**Miettinen, M.K., Siitonen, A., Heiskanen, P., Haajanen, H., Bjorkroth, K.J. et H.J. Korkeala.** (1999). Molecular epidemiology of an outbreak of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* in cold-smoked rainbow trout. *J. Clin. Microbiol.*, vol. 37, p. 2358-2360.

**MSSS (Ministère de la santé et des services sociaux du Québec).** (2009). Listériose. Site Web : <http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub/listeriose.php#situation> (consulté le 27 août 2010).

**Misrachi, A., Watson, A.J. et D. Coleman.** (1991). *Listeria* in smoked mussels in Tasmania. *Comm. Dis. Intell.*, vol. 15, p. 427.

**Mitchell, D.L.** (1991). A case cluster of listeriosis in Tasmania. *Comm. Dis. Intell.*, vol. 15, p. 427.

**NFI/NFPA (National Fisheries Institute and National Food Processors Associations).** (2002). *Listeria monocytogenes* control manual, Draft 9. Smoked seafood working group. Site Web : <http://foodscience.cornell.edu/cals/foodsci/research/labs/wiedmann/upload/SSWGLMManual.pdf> (consulté le 27 août 2010).

**Nguyen-the, C. et B.M. Lund.** (1991). The lethal effect of carrot on *Listeria* species. *J. Appl. Bacteriol.*, vol. 70, p. 479-488.

**Olsen, S.J., Patrick, M., Hunter, S.B., Reddy, V., Kornstein, L., MacKenzie, W.R., Lane, D., Bidol, S., Stoltman, G.A., Frye, D.M., Lee, I., Hurd, S., Jones, T.F., LaPorte, T.N., Dewitt, W., Graves, L., Wiedmann, M., Schoonmaker-Bopp, D.J., Huang, A.J., Vincent, C., Bugenhagen, A., Corby, J., Carloni, E.R., Holcomb, M.E., Woron, R.F., Zansky, S.M., Dowdle, G., Smith, F., Ahrabi-Fard, S., Ong, A.R., Tucker, N., Hynes, N.A. et P. Mead.** (2005). Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infection linked to delicatessen turkey meat. *Clin. Infect. Dis.*, vol. 40, p. 962-967.

**Pagotto, F., Ng, L-K., Clark, C., Farber, J. et le Réseau des laboratoires de santé publique du Canada.** (2006). Service de référence pour la listériose au Canada. *Foodborne Pathog. Dis.*, vol. 3, p. 132-137.

**Proctor, M.E., Brosch, R., Mellen, J.W., Garrett, L.A., Kaspar, C.W. et J.B. Luchansky.** (1995). Use of pulsed-field gel electrophoresis to link sporadic cases of invasive listeriosis with recalled chocolate milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 61, p. 3177-3179.

**Réseau international des autorités de sécurité sanitaire des aliments (INFOSAN)** de l'Organisation mondiale de la santé. (2009). Listeriosis outbreak linked to chicken wraps. Communication personnelle.

**Riedo, F.X., Pinner, R.W., Tosca, M. d., Cartter, M.L., Graves, L.M., Reeves, M.W., Weaver, R.E., Plikaytis, B.D. et C.V. Broome.** (1994). A point-source foodborne listeriosis outbreak: documented incubation period and possible mild illness. *J. Infect. Dis.*, vol. 170, p. 693-696.

**Roberts, T., Kowalcyk, B, Buck, P., Blaser, M.J., Frenkel, J.K., Lorber, B., Smith, J. et P.I. Tarr.** (2009). The long-term health outcomes of selected foodborne pathogens. Site Web : [http://www.foodborneillness.org/images/stories/cfi\\_pdfs/CFI\\_LTHO\\_PSP\\_report\\_Nov2009\\_FIN AL.pdf](http://www.foodborneillness.org/images/stories/cfi_pdfs/CFI_LTHO_PSP_report_Nov2009_FIN AL.pdf) (consulté le 31 août 2010).

**Rocourt, J., Jacquet, C., Brouille, F., Saint-Clément, C. et B. Catimel.** (1997). La listériose humaine en France en 1995 et 1996. Données du Centre national de références des *Listeria*. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, vol. 41, p. 186-187.

**Rooney, J. et P. Sutherland.** (2001). Independent review of food safety in the Hunter area health service. *HAHS Review of Food Safety*. Communication personnelle.

**Ryser, E.T. et E. H. Marth.** (2007). *Listeria*, Listeriosis, and Food Safety. Third edition. CRC Press.

**Salamina, G., Donne, E.D., Niccolini, A., Poda, G., Cesaroni, D., Bucci, M., Fini, R., Maldini, M., Schuchat, A., Swaminathan, B., Bibb, W., Rocourt, J., Binkin, N. et S. Salmaso.** (1996). A foodborne outbreak of gastroenteritis involving *Listeria monocytogenes*. *Epidemiol. Infect.*, vol. 117, p. 429-436.

**Salvat, G., Toquin, M.T., Michel, Y. et P.Colin.** (1995). Control of *Listeria monocytogenes* in the delicatessen industries: the lessons of a listeriosis outbreak in France. *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 25, p. 75-81.

**Santé Canada.** (2006). Lignes directrices sur l'évaluation de l'innocuité des aliments nouveaux. Site Web : <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/legislation/guide-ld/nf-an/guidelines-lignesdirectrices-fra.php> (consulté le 27 août 2010).

**Santé Canada.** (2007). Guide de préparation des demandes d'autorisation concernant les additifs alimentaires. Site Web : <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/pubs/guide-fra.php> (consulté le 27 août 2010).

**Santé Canada.** (2010a). Votre santé et vous, « *Listeria* et salubrité des aliments ». Site Web : <http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/iyh-vsv/food-aliment/listeria-fra.php> (consulté le 27 août 2010).

**Santé Canada.** (2010b). Votre santé et vous, « La salubrité des aliments pour les femmes enceintes ». Site Web : <http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/iyh-vsv/food-aliment/pregnant-enceintes-fra.php> (consulté le 27 août 2010).

**Santé Canada.** (2010c). Votre santé et vous, « Sécurité alimentaire pour les personnes dont le système immunitaire est affaibli ». Site Web : <http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/iyh-vsv/food-aliment/immune-sys-immunitaire-fra.php> (consulté le 27 août 2010).

**Santé Canada.** (2010d). Votre santé et vous, « Sécurité alimentaire pour les personnes âgées ». Site Web : <http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/iyh-vsv/food-aliment/adults-aines-fra.php> (consulté le 27 août 2010).

**Santé Canada.** (2010e). MFLP-41. Échantillonnage environnemental pour la détection des microorganismes. Dans : Compendium de méthodes, vol., 3. Site Web: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/volume3/mflp41-fra.php> (consulté le 13 septembre 2010).

**Santé Canada.** (2010f). Épreuves par provocation pour *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger réfrigérés. Publication à venir.

**Santé Canada.** (2010g). Publication à venir.

**Schlech, W. F., Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Allen, A. C., Haldane, E.V., Wort, A.J., Hightower, A.W., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S. et C.V. Broome.** (1983). Epidemic listeriosis – evidence for transmission by food. *New Eng. J. Med.*, vol. 308, p. 203-206.

**Sim, J., Hood, D., Finnie, L., Wilson, M., Graham, C., Brett, M. et J.A. Hudson.** (2002). Series of incidents of *Listeria monocytogenes* non-invasive febrile gastroenteritis involving ready-to-eat meats. *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 35, p. 409-413.

**Swaminathan, B. et P. Gerner-Smidt.** (2007). The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and Infection*, vol. 9, p. 1236-1243.

**Swaminathan, B., Cabanes, D., Zhang, W. et P. Cossart.** (2007). *Listeria monocytogenes*. Chapitre 21. Dans : *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, M.P. Doyle et L.R. Beuchat (éditeurs). ASM Press, Washington, D.C., p. 457-491.

**Tompkin, R.B., Christiansen, L.N., Shaparis, A.B., Baker, R.L. et J.M. Schroeder.** (1992). Control of *Listeria monocytogenes* in processed meats. *Food Australia*, vol. 44, p. 370-376.

**Tompkin, R.B., Scott, V.N., Bernard, D.T., Sveum, W.H. et K.S. Gombas.** (1999). Guidelines to prevent post-processing contamination from *Listeria monocytogenes*. *Dairy, Food and Environ. Sanit.*, vol. 19, p. 551-562.

**Tompkin, R.B.** (2002). Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. *J. Food Prot.*, vol. 64, p. 709-725.

**Watson, C. et K. Ott.** (1990). *Listeria* outbreak in Western Australia. *Commun. Dis Intelligence*, vol. 24, p. 9-12.

**Yde, M. et A. Genicot.** (2004). Use of PFGE to characterize clonal relationships among Belgian clinical isolates of *Listeria monocytogenes*. *J. Med. Microbiol.*, vol. 53, p. 399-402.