



DIRECTION GÉNÉRALE DES PRODUITS DE SANTÉ ET DES ALIMENTS

OTTAWA

DÉNOMBREMENT DES *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DANS LE FROMAGE

1. APPLICATION

Cette méthode est applicable au dénombrement des *Staphylococcus aureus* dans le fromage fabriqué à partir de sources pasteurisées ou non pasteurisées afin de déterminer s'il y a conformité avec les exigences de l'article B.08.011 du Règlement de la Loi sur les aliments et drogues. Cette méthode révisée remplace la méthode MFO-14 datée du 30 novembre 1983.

2. DESCRIPTION

Des études de l'AOAC et de la DGPS (8.2-8.10) ont démontré que cette méthode produit des résultats satisfaisants avec les produits suivants : viandes, poisson, volaille, légumes, céréales et produits laitiers contaminés naturellement et avec les aliments contaminés artificiellement.

2.2 Méthodes équivalentes

La méthode MFHPB-21, considérée équivalente à la méthode présentée ici, peut être utilisée pour déterminer la présence de *S. aureus* afin d'établir s'il y a conformité avec le Règlement de la Loi sur les aliments et drogues cité ci-dessus ainsi qu'au Tableau 1 de la présente méthode. Cette méthode se retrouve dans le Volume 2 du Compendium des méthodes.

3. PRINCIPE

Certains staphylocoques produisent des entérotoxines qui provoquent des intoxications alimentaires. À quelques exceptions près, seules les souches à coagulase positive ou qui produisent une nucléase thermostable (TNase) produisent des entérotoxines. Cette méthode permet de déterminer la présence de *S. aureus* par l'ensemencement de quantités (dilutions) connues d'un échantillon d'aliment sur gélose sélective. Après incubation, des colonies présumées de staphylocoques sont sélectionnées et soumises à des épreuves de confirmation. Le nombre de *S. aureus* par g ou ml d'aliment est calculé à partir des résultats de ces épreuves. Le nombre de staphylocoques présents peut indiquer la présence potentielle d'entérotoxine, ou peut indiquer aussi qu'il y a un manque de conformité aux bonnes pratiques d'hygiène.

4. DÉFINITIONS DES TERMES

Voir l'annexe A du volume 1.

5. PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Voir l'annexe B du volume 1.

6. MATÉRIEL ET ÉQUIPEMENTS SPÉCIAUX

Les milieux suivants (1 à 7) sont disponibles dans le commerce et doivent être préparés et stérilisés selon les instructions du fabricant. Voir aussi l'annexe G du volume 1 ainsi que la référence citée en 8.1 pour la composition de chaque milieu.

Note : Si l'analyste utilise des variantes des milieux dont la liste figure dans la présente méthode (soit un produit disponible dans le commerce ou fabriqué à partir d'ingrédients), il incombe à l'analyste ou au superviseur du laboratoire d'en assurer l'équivalence.

- 1) Base de gélose Baird-Parker (BP)
- 2) Émulsion de jaune d'œuf et de tellurite
- 3) Bouillon d'infusion de cerveau et de cœur (BHI); bouillon BHI avec extrait de levure (BHI-YE)

Note : Lorsqu'on soumet des isolats de *S. aureus* provenant de fromage vieilli (par exemple, fromage cheddar de > 9 mois) à des épreuves biochimiques (de confirmation), il est recommandé d'utiliser le bouillon BHI-YE. Ce bouillon aide à réanimer les micro-organismes et devrait produire des réactions typiques.

- 4) Gélose non sélective, soit gélose au sang (BA), gélose nutritive (NA) ou gélose de trypticase de soya (TSA)
- 5) Pentes de TSA
- 6) Solution de citrate de sodium à 2 %, tempérée à 40-45 °C
- 7) Eau peptonée (0,1 %)
- 8) pH mètre ou papier pH capable de distinguer de 0,3 à 0,5 unité pH dans l'échelle de pH 5,0 à 8,0
- 9) Stomacher, mélangeur ou l'équivalent
- 10) Mélangeur vortex ou l'équivalent
- 11) Souches témoins; utiliser les souches suivantes ou l'équivalent :

Note : Il est recommandé d'utiliser *S. aureus* à coagulase positive et *S. epidermidis* à coagulase négative comme témoins pendant toute la procédure. Les autres souches peuvent être utilisées à la discrétion du superviseur du laboratoire.

Témoins positifs : *S. aureus* à coagulase positive, p. ex., ATCC 27154, 25923
S. aureus à coagulase négative, p. ex., ATCC 14990, 33501

Témoins négatifs : *S. epidermidis*, p. ex., ATCC 12228
Escherichia coli, p. ex., ATCC 23509
Pseudomonas aeruginosa, p. ex., ATCC 7700

- 12) Colorant violet de cristal
- 13) Coagulase de plasma (lapin) (Suivre les instructions du fabricant pour la reconstitution)
- 14) Incubateurs ou bain-marie capables de maintenir une température de 35 °C et 40-45 °C

Note : Il incombe à chaque laboratoire de s'assurer que les incubateurs ou les bains-marie soient maintenus à la température recommandée. Lorsqu'on recommande 35 °C dans le texte de la méthode, l'incubateur peut être réglé à 35 +/-1,0 °C. De même, des températures plus basses de 30° ou 25 °C peuvent être à +/-1,0 °C près. Toutefois, lorsqu'on recommande des températures plus élevées, comme 43 ou 45,5 °C, il est impératif de maintenir la température des incubateurs ou des bains-marie à +/-0,5 °C près. Des températures plus élevées peuvent être létales pour le(s) micro-organisme(s) qu'on cherche à isoler.

15) Produits nécessaires pour la confirmation :

Les produits suivants peuvent être nécessaires pour la confirmation. Voir la section 7.5.

- A. Accuprobe (voir MFLP-79)
- B. Dosage des entérotoxines (voir MFLP-47, 67, 68 ou 69)
- C. Trousses d'agglutination au latex
- D. Trousses d'identification rapide
- E. Utilisation du glucose en anaérobiose (bouillon de phénol rouge et de glucides contenant 0,5 % de glucose, huile de paraffine stérile)
- F. Utilisation du mannitol en anaérobiose (bouillon de phénol rouge et de glucides contenant 0,5 % de mannitol, huile de paraffine stérile)
- G. Sensibilité à la lysostaphine (solution tampon physiologique au phosphate, solution de lysostaphine)
- H. TNase (voir MFHPB-28)

7. **MARCHE À SUIVRE**

Chaque unité d'échantillonnage doit être analysée individuellement. Effectuer l'analyse en suivant les instructions ci-dessous :

7.1 **Manipulation des unités d'échantillonnage**

- 7.1.1 Au cours de l'entreposage et du transport, les règles suivantes s'appliquent : à l'exception des aliments qui se conservent à la température de la pièce, garder les unités d'échantillonnage au réfrigérateur (0-5 °C). Il faut garder au congélateur les unités d'échantillonnage de produits congelés. Faire dégeler les échantillons congelés dans un réfrigérateur, ou pendant une période et à une température qui empêchent la croissance ou la mort des micro-organismes.
- 7.1.2 Analyser les unités d'échantillonnage le plus tôt possible après leur arrivée au laboratoire.

7.2 **Préparation pour l'analyse**

- 7.2.1 Préparer une solution stérile de citrate de sodium à 2 %, tempérée à 40-45 °C.
- 7.2.2 Nettoyer la surface de travail avec un désinfectant approprié.

7.3 **Préparation de l'échantillon**

- 7.3.1 Afin que l'unité d'analyse soit vraiment représentative, prélever des portions à différents endroits de chaque unité d'échantillonnage de solides,
ou

- 7.3.2 Si l'unité d'échantillonnage est un solide fluide (poudre), mélanger soigneusement chaque unité d'échantillonnage en agitant le contenant.
- 7.3.3 Préparer une dilution 1:10 de l'aliment en ajoutant de façon aseptique 11(10) g (l'unité d'analyse) à 99(90) ml de solution de citrate de sodium à 2 % tempérée (40-45 °C). On peut également peser l'échantillon dans un pot stérile de mélangeur ou un sac stérile pour stomacher et ajouter le diluant à l'échantillon.

Note : Le poids ou le volume entre parenthèses indique une autre façon de préparer les dilutions.

- 7.3.4 S'il faut mélanger la dilution 1:10 par agitation, agiter la bouteille de dilution 25 fois en suivant un arc de 30 cm pendant 7 secondes environ.
- 7.3.5 Laisser l'homogénat d'aliments secs (dilution 1:10) reposer à la température de la pièce pendant 15 minutes. Dans tous les autres cas, poursuivre l'analyse sans tarder.
- 7.3.6 Utiliser le mélangeur ou le stomacher pendant le temps minimum nécessaire pour obtenir une suspension homogène; pour éviter de surchauffer, ne pas mélanger pendant plus de 2,5 minutes. Dans le cas des aliments qui ont tendance à mousser, régler le mélangeur à basse vitesse et prélever ensuite une portion aliquote sous l'interface liquide-mousse.
- 7.3.7 Vérifier le pH de la suspension d'aliment. Si le pH ne se situe pas entre 5,5 et 7,6, ajuster le pH à 7,0 avec du NaOH IN ou du HCl IN stérile.
- 7.3.8 Selon les besoins, préparer des dilutions décimales successives dans l'eau peptonée en utilisant une pipette stérile distincte pour effectuer chaque transfert.
- 7.3.9 Agiter toutes les dilutions immédiatement avant d'effectuer les transferts afin d'assurer l'uniformité de la distribution des micro-organismes présents.

7.4 Dénombrement des *S. aureus* présumés

7.4.1 Ensemencement

- 7.4.1.1 Agiter chaque dilution afin de suspendre à nouveau les matières qui auraient pu se déposer au cours de la préparation. Il faut effectuer l'ensemencement dans les 15 minutes qui suivent la préparation des dilutions.
- 7.4.1.2 Lorsqu'un compte de <25/g constitue un résultat acceptable à rapporter pour un produit, étaler 0,2 ml de chaque dilution à utiliser sur chacune des boîtes de gélose BP préparées en double. Lorsque <5/g constitue un résultat acceptable à rapporter pour un produit, étaler alors 0,4 ml de la dilution 1:10 sur la surface de chacune de cinq boîtes de géloses BP.
- 7.4.1.3 Il ne faut pas étaler le liquide jusqu'au bord des boîtes car ceci provoque une croissance confluyente à l'interface boîte-gélose, croissance qui est difficile à compter.
- 7.4.1.4 Maintenir les boîtes à l'endroit jusqu'à ce que le milieu ait absorbé l'inoculum (environ 10 minutes sur des boîtes bien asséchées). Si le milieu n'absorbe pas facilement l'inoculum, on peut placer les boîtes à l'endroit dans l'incubateur pendant au plus une heure.

7.4.2 Incubation

- 7.4.2.1 Inverser les boîtes et incuber à 35 °C pendant 48 ± 4 h. Observer les boîtes après 24-30 h pour vérifier s'il y a excès de croissance; on peut

alors compter les colonies présumées à ce moment, mais il faut vérifier le dénombrement une fois la période de 48 ± 4 h écoulée.

7.4.2.2 Éviter d'empiler ou d'entasser trop de boîtes de gélose afin de les laisser atteindre rapidement et uniformément la température de l'incubateur.

7.4.3 Dénombrement des colonies et consignation des résultats

7.4.3.1 Observer les deux types suivants de colonies présumées de staphylocoques :

Type 1. Colonies noires brillantes, entières, convexes, entourées de zones claires s'étendant dans le milieu opaque.

Type 2. Colonies noires brillantes, entières, convexes, sans zone claire bien définie.

Chaque type de colonie peut être entouré d'une bordure gris-blanc et/ou de zones opaques (halos doubles).

Il ne faut pas compter les colonies noires mucoïdes ayant plus de 2 mm de diamètre, ni les colonies envahissantes. Ces colonies appartiennent habituellement au genre *Bacillus*.

7.4.3.2 Dénombrer les colonies de chaque type et consigner séparément, mais les additionner pour obtenir le nombre total de colonies présumées.

7.4.3.3 Compter les colonies immédiatement après la période d'incubation

7.4.4 Dénombrement des cinq boîtes de la dilution 1:10

7.4.4.1 Si le nombre de toutes les colonies présumées de staphylocoques est inférieur à 20 par boîte, additionner séparément le total de chaque type à partir des 5 boîtes et consigner comme dénombrement présumé respectif. Il s'agit du dénombrement de l'un des deux types par 2 ml (0,2 g d'aliment). Multiplier chaque dénombrement par 5 et consigner comme étant le dénombrement présumé respectif par g d'aliment (C). Additionner les résultats et rapporter comme étant le dénombrement présumé total par g d'aliment.

7.4.4.2 Si le nombre de toutes les colonies présumées de staphylocoques s'établit entre 20 et 200 par boîte, choisir deux boîtes au hasard, compter séparément le nombre de colonies de chaque type et calculer le dénombrement présumé moyen de chaque boîte (par 0,4 ml, ce qui équivaut à 0,04 g d'aliment) (A/2). Multiplier chaque dénombrement par 25 et consigner le résultat comme étant le dénombrement présumé respectif par g d'aliment (C). Additionner les résultats et consigner comme le dénombrement présumé total par g d'aliment.

7.4.4.3 Si, parmi les cinq boîtes, certaines ont un nombre de colonies présumées de staphylocoques < 20 et d'autres un nombre de colonies présumées ≥ 20 , procéder comme dans 7.4.4.1 ci-dessus.

7.4.5 Dénombrement des boîtes préparées en double (toute dilution)

7.4.5.1 Sélectionner les boîtes qui contiennent de 20 à 200 colonies présumées de staphylocoques par boîte, total constitué des comptes combinés de tous les types.

- 7.4.5.2 Calculer le nombre présumé moyen par boîte pour chaque type (A/2), multiplier chaque nombre présumé par cinq et par le facteur approprié de dilution, et consigner le total obtenu comme nombre présumé par g d'aliment pour chaque type (C). Additionner les résultats et consigner comme nombre présumé total par g d'aliment.
- 7.4.5.3 Si des boîtes de plus d'une dilution sont utilisées, il faut établir la moyenne des totaux de la façon indiquée ci-dessous.
- 7.4.5.4 S'il n'y a aucune boîte contenant de 20 à 200 colonies présumées de staphylocoques, établir un compte estimatif en utilisant les boîtes en dehors de cette plage. Rapporter les résultats comme des comptes estimés lorsque les résultats sont en dehors de la plage 20-200.
- 7.4.5.5 Lorsqu'un nombre estimatif contribue au nombre moyen, cette moyenne devient une valeur estimative.

7.4.6 Établissement de la moyenne des dénombrements de deux dilutions

- 7.4.6.1 Si les boîtes provenant de deux dilutions décimales consécutives présentent des dénombrements dans la plage de 20-200 colonies présumées de staphylocoques par boîte, il faut utiliser le compte des quatre boîtes pour établir la moyenne. Comme il faut compter séparément les deux types de colonies et qu'il est fort possible que les totaux individuels soient inférieurs à 20, bien que les totaux combinés se retrouvent à l'intérieur de la plage, il faudrait combiner des valeurs estimatives et des valeurs réelles pour obtenir une valeur moyenne. La formule suivante permet d'éviter cette difficulté :

$$\text{Dénombrement moyen de colonie /g} = \frac{\text{Nombre total de colonies comptées}}{\text{Volume utilisé } \left(\frac{1}{\text{Dilution}_1} + \frac{1}{\text{Dilution}_2} \right)}$$

Voir le tableau II pour un exemple de calcul des colonies.

- 7.4.6.2 Si l'on n'obtient aucune colonie présumée de staphylocoques, consigner les dénombrements présumés comme étant < 5 par g ou ml pour les cinq boîtes de la dilution 1:10 ou < 2,5 x le facteur de dilution pour les boîtes préparées en double.

7.5 Épreuves de confirmation

Note: Utiliser simultanément des témoins (cultures positives et négatives et milieux témoins) pour toutes les épreuves de confirmation.

7.5.1 Choix des colonies

À partir des boîtes dénombrées, choisir un certain nombre de colonies de chaque type pour confirmation et vérification de la pureté de la culture :

- 7.5.1.1 Lorsque le nombre total par type de colonie sur toutes les boîtes d'une dilution est inférieur à cinq, prélever toutes les colonies du type en question.
- 7.5.1.2 Lorsque le nombre total par type de colonie sur toutes les boîtes d'une dilution est égal ou supérieur à cinq, prélever au hasard cinq colonies du type en question.
- 7.5.1.3 Si les colonies sont typiques et bien isolées, transférer un inoculum de chaque colonie dans une éprouvette de milieu BHI pour l'épreuve de la coagulase, ainsi que sur une pente de TSA dans l'éventualité où des épreuves supplémentaires sont requises. Incuber à 35 °C pendant 18-24 h. Procéder à la section 7.5.2.

- 7.5.1.4 Si un isolat n'est pas pur, ensemercer en stries chaque colonie prélevée sur une gélose fraîche de BP ou sur un milieu non sélectif tel que gélose BA, NA ou TSA afin d'obtenir des colonies distinctes.
- 7.5.1.5 Incuber à 35 °C pendant 24 ± 2 h.
- 7.5.1.6 Effectuer un frottis à partir de la croissance de chaque isolat et colorer avec un colorant simple (violet de cristal, par exemple). Examiner au microscope pour déceler la présence de coques.
- 7.5.1.7 Si les isolats ne comprennent que des coques typiques de *S. aureus*, transférer un inoculum de chaque isolat dans une éprouvette de bouillon BHI et incuber à 35 °C pendant 18-24 h.
- 7.5.1.8 Procéder à la section 7.5.2.
- 7.5.2 Épreuve de la production de coagulase
- Pour la confirmation de *S. aureus*, commencer par l'épreuve de la coagulase. Suivre les instructions du fabricant pour la préparation de l'antisérum et effectuer l'épreuve comme suit:
- 7.5.2.1 Transférer 0,2 ml de chaque culture de bouillon BHI dans une éprouvette stérile contenant 0,5 ml de plasma homologué pour l'épreuve de la coagulase. Mélanger soigneusement.
- 7.5.2.2 Incuber les éprouvettes à 35 °C et examiner après 1 h et après 4 h. Ne pas agiter les éprouvettes durant l'incubation. Incuber les éprouvettes négatives toute la nuit à la température de la pièce et vérifier de nouveau.
- 7.5.2.3 La formation d'un caillot distinct tel qu'illustré à la figure 2 est considérée comme une réaction positive à l'épreuve de la coagulase.
- 7.5.2.4 La présence d'un caillot ferme qui ne bouge pas lorsque l'éprouvette est penchée (réaction coagulase 4+) constitue un résultat positif pour la présence de *S. aureus*; aucune autre confirmation n'est nécessaire.
- 7.5.2.5 S'il n'y a aucune réaction à la coagulase, alors l'isolat n'est pas considéré comme étant *S. aureus* et aucune autre confirmation n'est requise.
- 7.5.3 Si la réaction à la coagulase est de 3+ ou moins, il faut procéder à au moins deux des épreuves de confirmation suivantes. Si deux de ces épreuves donnent un résultat positif, l'isolat est alors considéré comme étant *S. aureus*.
- 1) Méthode Accuprobe (MFLP-79),
 - 2) Dosages des entérotoxines staphylococciques (MFLP-47, 67, 68, 69),
 - 3) Trousses d'agglutination au latex,
 - 4) Trousses d'identification rapide, ou
 - 5) Au moins une des épreuves de confirmation supplémentaires énumérées à la section 7.5.4. Il importe que l'épreuve de la sensibilité à la lysostaphine et l'utilisation du glucose en anaérobiose ne soient pas les deux seules épreuves effectuées, puisqu'elles ne distinguent pas le *S. aureus* du *S. epidermidis*.
- 7.5.4 Épreuves supplémentaires de confirmation

On peut procéder à au moins une des épreuves supplémentaires suivantes; ne pas oublier que l'utilisation du glucose en anaérobiose et la sensibilité à la lysostaphine ne doivent pas être les deux seules épreuves effectuées.

7.5.4.1 Utilisation du glucose en anaérobiose

Ensemencer la culture à vérifier dans une éprouvette de milieu de fermentation des glucides contenant du glucose à 0,5 %. Recouvrir d'huile de paraffine et incuber à 35 °C pendant 18-24 h. Un changement de couleur indiquant une réaction acide confirme une réaction positive pour le *S. aureus*.

7.5.4.2 Utilisation du mannitol en anaérobiose

Procéder comme dans le cas de l'utilisation du glucose, sauf que la source de glucide provient du mannitol. Le *S. aureus* donne habituellement une réaction positive, mais certaines souches ne fermentent pas le mannitol.

7.5.4.3 Sensibilité à la lysostaphine

Ensemencer la culture à analyser dans 0,2 ml de solution tampon saline au phosphate et émulsionner. Transférer la moitié des cellules en suspension dans une autre éprouvette (13 x 100 mm) et mélanger avec 0,1 ml de solution tampon saline au phosphate pour produire un témoin négatif. Ajouter 0,1 ml de solution de lysostaphine à l'éprouvette originale pour obtenir une concentration de 25 mg de lysostaphine par ml de suspension de cellules. Incuber les deux éprouvettes à 35 °C pendant 2 heures au maximum. Si le contenu de l'éprouvette qui contient des cellules et de la lysostaphine s'éclaircit, et si celui de l'éprouvette témoin ne s'éclaircit pas, l'épreuve est positive pour *S. aureus*. Si le mélange ne s'est pas éclairci en 2 heures, l'épreuve est négative.

7.5.4.4 Épreuve de la production de thermonucléase

Procéder à l'épreuve de dépistage de la nucléase thermostable (TNase) selon le protocole décrit dans la méthode MFHPB-28.

7.5.5 Calculs du dénombrement total de *S. aureus*

En se fondant sur les épreuves de confirmation de chacun des deux types de culture, consigner le nombre total de *S. aureus* par g d'aliment (N_T). Le nombre total de *S. aureus* par g est égal à la somme du nombre de *S. aureus* des types 1 et 2 ($N_T = N_1 + N_2$)

No. de <i>S. aureus</i> type 1 par g (N_1)	=	No. de colonies confirmées de <i>S. aureus</i> (P) <hr style="width: 100%; border: 0.5px solid black;"/> No. colonies testées (G)	x	dénombrement préssumé du type 1(C)
---	---	---	---	---------------------------------------

Procéder de la même façon pour le type 2. Voir le tableau II.

8. RÉFÉRENCES

8.1 Atlas, R.M. 1997. *Handbook of Microbiological Media*. Second edition. L.C. Parks (editor). CRC Press Inc.

8.2 American Public Health Association (APHA). 1992. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. APHA. Washington, DC. Chap. 33, p. 533-550.

- 8.3 Association of Official Analytical Chemists, (AOAC). 1999. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th. AOAC. Gaithersburg, Md. Vol. I. Chap. 17, p. 32-34.
- 8.4 Baird-Parker, A.C. 1962. An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. J. Appl. Bacteriol. **25**:12-19.
- 8.5 Baird-Parker, A.C. et E. Davenport. 1965. The effect of recovery medium on the isolation of *Staphylococcus aureus* after heat treatment and after storage of frozen or dried cells. J. Appl. Bacteriol. **28**:390-402.
- 8.6 Collins-Thompson, D.L., A. Hurst et B. Aris. 1974. Comparison of selective media for the enumeration of sublethally heated food-poisoning strains of *Staphylococcus aureus*. J Can Microbiol **20**:1072-1075.
- 8.7 Crisley, F.D., J.T. Peeler et R. Angelotti. 1965. Comparative evaluation of five selective and differential media for the detection and enumeration of coagulase-positive staphylococci in foods. Appl. Microbiol. **13**:140-156.
- 8.8 Koskitalo, L.D. et M.E. Milling. 1969. Lack of correlation between egg yolk reaction in staphylococci medium 110 supplemented with egg yolk and coagulase activity of staphylococci isolated from cheddar cheese. J Can Microbiol **15**:132-133.
- 8.9 Rayman, M.K., C.E. Park, J. Philpott et E.C.D. Todd. 1975. Reassessment of the coagulase and thermostable nuclease tests as means of identifying *Staphylococcus aureus*. Appl. Microbiol. **29**:451-454
- 8.10 Selepak, S.T. et F.G. Witelsky. 1985. Inoculum size and lot-to-lot variation as significant variables in tube coagulase test for *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. **22**(5):835-837.
- 8.11 Sperber, W.H. et S.R. Tatini. 1975. Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. Appl. Microbiol. **29**:502-505.

FIGURE 1
Diagramme du procédé de confirmation

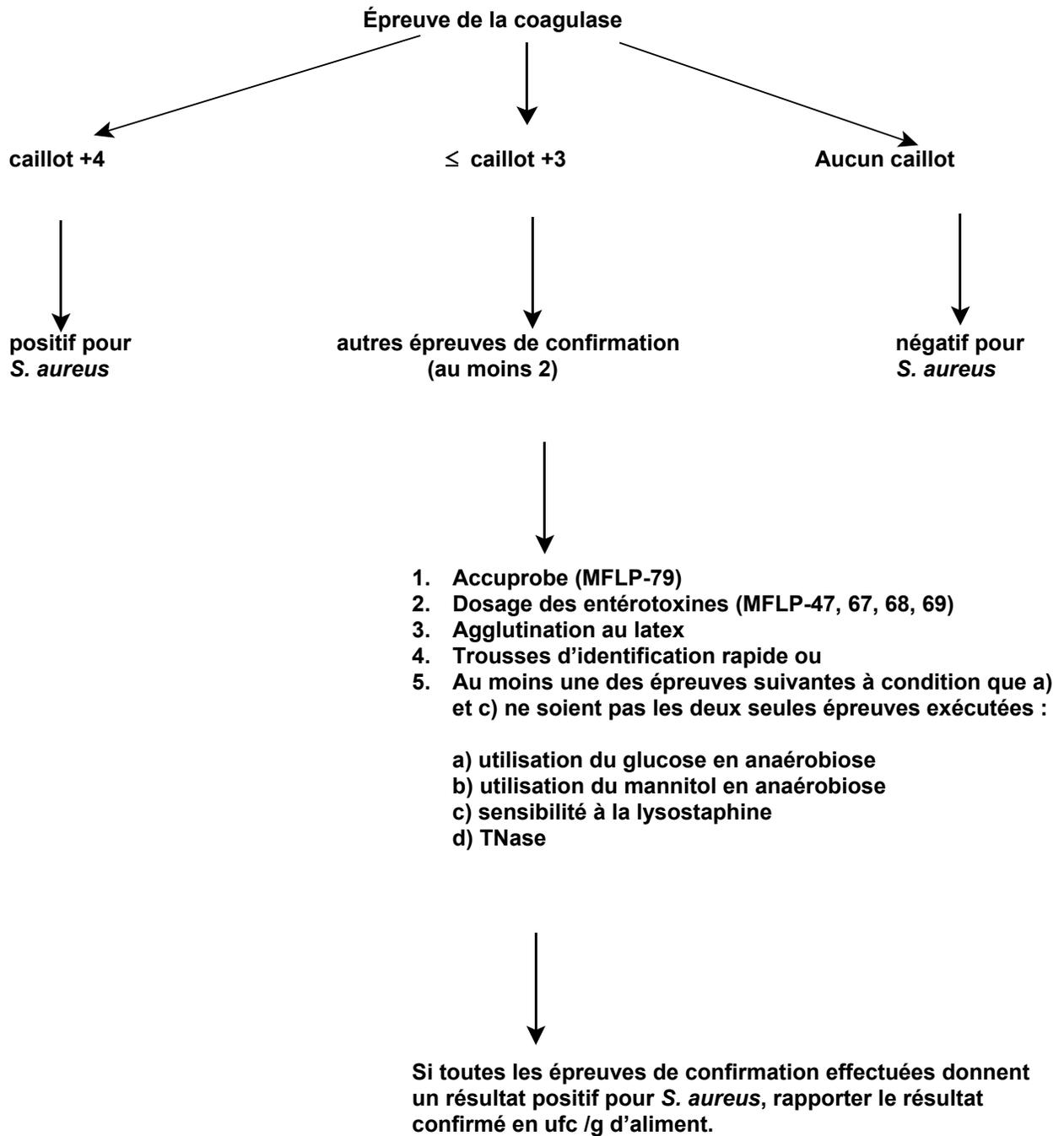
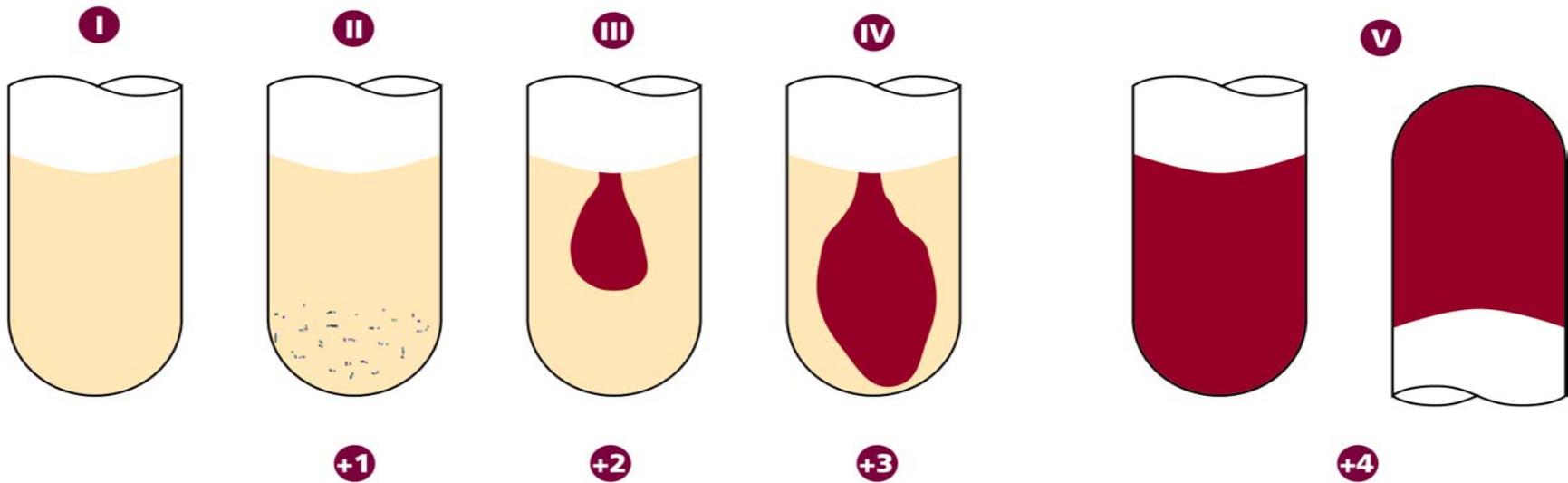


FIGURE 2

COAGULASE TEST REACTION / RÉACTION DE L'ÉPREUVE À LA COAGULASE

Tube number/ Numéro d'éprouvette



Intensity of reaction/ Intesité de la réaction
(degree of clotting)/ (degré de coagulation)

NEGATIVE/ NÉGATIVE

POSITIVE

TABLEAU I

Tolérances et plans d'échantillonnage pour la détermination de *S. aureus* dans des aliments spécifiques

Détermination	Aliment	Règlement de la Loi sur les aliments et drogues	Tolérances			
			Nombre d'unités d'échantillonnage (n)	Nombre acceptable (c)	Concentration de microorganismes (m)	Concentration maximale de microorganismes (M)
<i>S. aureus</i>	fromage fabriqué à partir de sources pasteurisées ou non pasteurisées	B.08.011	5	2	100	10000

Lot : Quantité définie ou unité de production qu'il est possible d'identifier par le même code. Lorsqu'il n'y a pas de code d'identification, un lot peut être considéré comme a) la quantité de produit fabriquée essentiellement dans les mêmes conditions, au même établissement et représentant au plus une journée de production; ou b) la quantité de la même variété de produit provenant du même fabricant qui est disponible lors de l'échantillonnage à un endroit donné.

n : Nombre d'unités d'échantillonnage habituellement, mais pas toujours, choisies au hasard à partir d'un lot et examinées afin de répondre aux exigences d'un plan d'acceptation particulier. C'est ce qu'on appelle l'échantillon.

m : La valeur numérique de « m » représente des concentrations acceptables du micro-organisme, habituellement par g ou ml. Dans un plan à deux classes, « m » distingue les unités d'échantillonnage de qualité acceptable de celles qui sont de qualité inacceptable; dans un plan à trois classes, « m » sépare les unités d'échantillonnage de qualité acceptable de celles qui sont de qualité marginalement acceptable. Les valeurs « m » indiquées dans le tableau sont fondées sur des niveaux atteignables par des BPF.

M : (Pour un plan à trois classes seulement), la valeur numérique de « M » représente des concentrations inacceptables de micro-organismes, habituellement par g ou ml, qui indiquent un danger pour la santé ou traumatisme (potentiel), une détérioration imminente ou un manquement grossier à l'hygiène; « M » distingue les unités d'échantillonnage de qualité marginale de celles qui sont de qualité inacceptable. Une valeur établie pour une unité d'échantillonnage d'un échantillon qui est supérieure à « M » rend le lot en question inacceptable.

c : Nombre maximal permis d'unités d'échantillonnage de qualité marginale. « c » est le nombre d'acceptation d'un plan. Lorsque ce nombre est dépassé, le lot devient inacceptable.

TABLEAU II

Exemple de dénombrement de *S. aureus* par g ou ml d'aliment

N ^{bre} total de colonies d'un des deux types sur des boîtes préparées en double «A»	N ^{bre} d'isolats testés «G»	N ^{bre} d'isolats confirmés comme étant <i>S. aureus</i> «P»	N ^{bre} total de colonies de l'un des deux types par g ou ml «C» C = 1/2AxD*5**	N ^{bre} de <i>S. aureus</i> de l'un des deux types par g ou ml «N» N = (P/G)xC
Moins de 5 (p. ex., 4)	Tous (4)	2	1 000	500
Plus de 5 (p. ex., 18)	5(5)	4	4 500	3 600

Calculer N₁ et N₂ pour chaque type de colonie afin d'obtenir le nombre total de *S. aureus*. (N_T) par g ou ml. N_T = N₁ + N₂

p. ex., si N₁ = 1 000, et N₂ = 100,
N_T = 1 000 + 100 = 1 100 par g

* Facteur de dilution = 100

** Pour des boîtes préparées en double, 0,2 ml par boîte. Diviser par 2 puisque «A» représente le nombre total de l'un des deux types sur deux boîtes préparées en double. Rapporter le nombre total de *Staphylococcus aureus* par g ou ml d'aliment en arrondissant à deux chiffres significatifs.

N.B. : Si l'on compte les 5 boîtes de la dilution 1:10; C = A x 10 x 0,5.
Si l'on compte 2 des 5 boîtes de la dilution 1:10; C = 1/2A x 10 x 2,5.

La méthode décrite ci-dessus qui comporte 13 pages et porte l'identification MFO-22 et la date de Juillet 2002, est par la présente désignée « méthode officielle » mentionnée à l'article B.08.011 du Règlement sur les aliments et drogues pour l'analyse microbiologique du fromage fabriqué à partir de sources pasteurisées ou non pasteurisées.

Le sous-ministre adjoint