



DIRECTION GÉNÉRALE DE LA PROTECTION DE LA SANTÉ

OTTAWA

**Détection d'asticots, d'acariens, de nématodes et de moisissures
dans les champignons**

1. **APPLICATION**

La présente méthode s'applique à l'échantillonnage et à l'examen des champignons frais, en conserve, congelés et déshydratés et permet de déceler la présence d'asticots, d'acariens, de nématodes et de moisissures et ainsi déterminer leur conformité aux Articles 4, 5 et 7 de la Loi des aliments et drogues.

2. **ÉCHANTILLONNAGE**

- 2.1 Un lot désigne la quantité (volume, poids, etc.) d'aliment qui est produite, entreposée ou expédiée dans les conditions les plus uniformes possible, désignée, de préférence sur chaque contenant par une marque ou un code commun et, dans tous les cas, composée d'une seule variété, catégorie ou type de produit provenant d'une seule source identifiable.
- 2.2 Prélever six unités d'échantillonnage (dans le cas de boîtes de conserve, prélever six boîtes) d'au moins 100 g chacune, choisies au hasard dans le lot, au moyen de matériel d'échantillonnage et de contenants appropriés. Six unités d'échantillonnage constituent un échantillon.
- 2.3 Chaque unité d'échantillonnage doit être conservée à part des autres et on doit lui attribuer un numéro de 1 à 6. Des renseignements complets sur la taille du lot, le poids de chaque contenant, le pays d'origine, l'exportateur, l'importateur ou le manufacturier canadien, l'identification du produit et du lot doivent être consignés et accompagner l'échantillon.
- 2.4 Examiner attentivement le lot entier afin de détecter toute infestation vivante. Le cas échéant, ne procéder au prélèvement des unités d'échantillonnage qu'après fumigation ou autre traitement efficace.

3. MÉTHODE

La recherche d'asticots, d'acariens, de nématodes et de moisissures doit s'effectuer conformément aux instructions suivantes:

3.1 Matériel et réactifs

- 3.1.1 Capsule en porcelaine pour évaporation (10") pouvant recevoir un tamis de 8 pouces
- 3.1.2 Tamis standard américain #8, #20, #40 et #140
- 3.1.3 Mélangeur à haute vitesse muni d'un transformateur à rapport variable
- 3.1.4 Bêchers (1 L et 600 ml)
- 3.1.5 Flacons-gicleurs
- 3.1.6 Appareil de filtration sous vide avec entonnoir de type Hirsch ou Buchner; dans les deux cas, le diamètre du papier-filtre (papier réglé n° 8, S & S) doit être supérieur à celui de la plaque de l'entonnoir de manière que le papier forme une coupe à l'intérieur de l'entonnoir. Humecter le papier-filtre et s'assurer qu'il est placé correctement avant de procéder à la filtration.
- 3.1.7 Boîtes de Pétri (correspondant à la taille du papier-filtre utilisé)
- 3.1.8 Violet-cristal en solution aqueuse saturée
- 3.1.9 Hypochlorite de sodium du commerce, à environ 5,25%
- 3.1.10 Loupe (3-5 X)
- 3.1.11 Microscope stéréoscopique (10-30 X)
- 3.1.12 Microscope composé (100 X)

3.2 Préparation des unités d'analyse

- 3.2.1 Dans le cas de chacune des 6 unités d'échantillonnage, un prélèvement de 100 g constitue une unité d'analyse.

3.3 Examen (asticots, acariens et nématodes) (5.1)

- 3.3.1 Champignons en conserve - Verser le contenu de la boîte de conserve dans un tamis n° 8 préalablement pesé et recueillir le jus dans une capsule pour évaporation.
- 3.3.2 Laisser égoutter pendant 2 minutes et, par soustraction, déterminer le poids total des champignons.
- 3.3.3 Rincer les champignons et la boîte à l'eau, ajouter l'eau de rinçage au jus et filtrer le liquide au moyen de l'appareil de filtration sous vide muni de papier-filtre réglé.
- 3.3.4 Examiner le papier-filtre au microscope (10-30 X) et procéder au dénombrement total des asticots dont la taille est inférieure à 2mm, des fragments d'asticots (comprenant le crochet buccal entier), des asticots entiers dont la taille est supérieure ou égale à 2mm, des acariens et des nématodes présents dans le liquide.
- 3.3.5 Déposer 100 g de champignons égouttés dans un mélangeur à haute vitesse.

- 3.3.6 Ajouter 300 ml d'eau et mélanger pendant 30-45 secondes à environ 3000 rpm. Les champignons devraient être en fragments de 3-5 mm de longueur.
- 3.3.7 Verser le mélange dans des tamis n° 20, 40 et 140, de 8 pouces de diamètre et emboîtés les uns dans les autres.
- 3.3.8 Rincer pendant 2-3 minutes à l'eau du robinet.
- 3.3.9 Jeter le contenu du tamis n° 20.
- 3.3.10 Placer le résidu du tamis n° 40 dans l'eau, dans un bécher de 600 ml, et porter le volume à 100 ml.
- 3.3.11 Ajouter 5 ml de violet-cristal en solution aqueuse saturée et amener au point d'ébullition.
- 3.3.12 Verser le mélange coloré dans le tamis n° 40 et laver à l'eau pour en retirer le surplus de colorant.
- 3.3.13 À l'aide d'un flacon-gicleur, laver successivement à l'hypochlorite de sodium et à l'eau (faible jet de vaporisateur) jusqu'à la disparition du colorant.
- 3.3.14 Laver le mélange dans un bécher de 600 ml et le transférer sur le papier-filtre réglé au moyen de l'appareil de filtration sous vide. Il peut être nécessaire d'utiliser plus d'un papier-filtre pour éviter que les vers ne soient masqués par les champignons.
- 3.3.15 Placer le résidu du filtre n° 140 dans l'eau, dans un bécher de 600 ml, et répéter les étapes de coloration, de blanchiment et de filtration.
- 3.3.16 Examiner les papiers-filtres au microscope et rechercher la présence d'asticots, d'acariens et de nématodes.
- 3.3.17 Examiner de la même façon les cinq autres unités d'analyse.
- 3.3.18 Champignons frais ou congelés - examiner un échantillon de 100 g de la façon décrite à l'étape 3.3.5.
- 3.3.19 Champignons séchés - Tremper dans l'eau pendant toute une nuit (16-18 heures) et examiner 100 g de substance hydratée de la manière décrite à l'étape 3.3.5.

3.4 Calcul et enregistrement des résultats

- 3.4.1 Dénombrer les asticots entiers de moins de 2 mm de longueur ainsi que les fragments d'asticots (comprenant le crochet buccal entier) présents dans 100 g de champignons égouttés. À la valeur obtenue, et uniquement dans le cas des champignons en conserve, ajouter le nombre d'asticots ou de fragments d'asticots présents dans le liquide drainé (étape 3.3.4):

Champignons en conserve:

$$\text{Nombre total} = \text{nombre contenu dans le jus} \times \frac{100}{\text{poids total des champignons}} + \text{nombre dans le tamis n}^\circ 40 + \text{nombre dans le tamis n}^\circ 140$$

Champignons séchés, frais ou congelés:

Nombre total = nombre + nombre
dans le dans le
tamis n° 40 tamis n° 140

3.4.2 Dénombrer les asticots entiers de taille supérieure ou égale à 2 mm; à la valeur obtenue, et uniquement dans le cas des champignons en conserve, ajouter le nombre d'asticots entiers de taille supérieure ou égale à 2mm présents dans le liquide drainé (étape 3.3.4). Effectuer le calcul de la même manière qu'à l'étape 3.4.1.

3.4.3 Dénombrer les nématodes présents dans un échantillon de 100 g de champignons de la manière décrite à l'étape 3.4.1.

3.4.4 Dénombrer les acariens présents dans un échantillon de 100 g de champignons de la manière décrite à l'étape 3.4.1.

3.5 Examen - moisissures

3.5.1 Champignons en conserve - Étaler uniformément le contenu de la boîte sur le tamis n° 8. Laisser égoutter pendant au moins 2 minutes. Procéder de la manière décrite à l'étape 3.5.2.

Champignons séchés - Faire tremper les champignons pendant plusieurs heures ou les chauffer à la vapeur pendant 1,5 à 2 heures pour les amollir. Égoutter pendant au moins 2 minutes sur un tamis n° 8. Procéder de la façon décrite à l'étape 3.5.2.

Champignons frais et congelés - Aucune préparation n'est nécessaire. Procéder à l'examen de la façon décrite à l'étape 3.5.2.

3.5.2 Peser 100 g de champignons en conserve, congelés, déshydratés ou frais.

3.5.3 Examiner chaque champignon ou morceau de champignon à un grossissement de 3-5 X; rechercher les signes de décomposition dus aux moisissures. Les parties atteintes présentent des taches, des stries ou des piqûres brun foncé ou noires. Placer les particules suspectes sur une lamelle de verre et les examiner au microscope composé à 100 X pour identifier les filaments de moisissures.

3.5.4 Examiner de la même façon les cinq autres unités d'analyse.

3.6 Classification

Rejeter tout champignon ou tout morceau de champignon qui comporte des parties moisies ou pourries, isolées ou en agrégats, de diamètre supérieur ou égal à 5 mm.

3.7 Calcul et enregistrement des résultats

3.7.1 Noter le pourcentage par poids de champignons en décomposition rejetés de chaque unité d'analyse. Par exemple, si le nombre de champignons ou de morceaux de champignons rejetés = 5, et que le poids des 5 rejets = 20 g,

le pourcentage par poids est de 20 g x 100 = 20 %

100 g

4. INTERPRÉTATION

4.1 Les lignes directrices sont formulées suivant des plans d'échantillonnage de réception à 3 classes par attribut. Les symboles utilisés dans ces plans se définissent comme suit:

- n - Le nombre d'unités d'échantillonnage d'un lot qui doivent être analysées afin de répondre aux exigences du plan de réception; n représente la taille de l'échantillon.
- c - Le nombre maximum permis d'unités d'échantillonnage de qualité marginale dans chaque échantillon.
- m - Un critère qui, dans le plan de réception à trois classes distingue les unités de bonne qualité des unités de qualité marginale. En général m représente un niveau acceptable, et les valeurs supérieures à m et inférieures ou égales à M, sont de qualité marginale.
- M - Un critère qui distingue la qualité marginale de la qualité inacceptable. Les valeurs supérieures à M sont inacceptables.

4.2 Asticots de taille inférieure à 2 mm et fragments d'asticots

4.2.1 Le lot répond aux exigences des Articles 4, 5 et 7 de la Loi des aliments et drogues lorsque $n = 6$, $c = 2$, $m = 10/100$ g et $M = 20/100$ g. Ce qui signifie que sur six unités d'échantillonnage examinées, pas plus de deux unités ne doivent contenir plus de 10 asticots de moins de 2 mm ou fragments d'asticots par 100 g, et qu'aucune des six unités d'échantillonnage examinées ne doit contenir plus de 20 asticots de moins de 2 mm ou fragments d'asticots par 100 g.

4.3 Asticots de taille supérieure ou égale à 2 mm

4.3.1 Le lot répond aux exigences des Articles 4, 5 et 7 de la Loi des aliments et drogues lorsque $n = 6$, $c = 2$, $m = 0/100$ g et $M = 5/100$ g. Ce qui signifie que sur six unités d'échantillonnage examinées, pas plus de deux unités ne doivent contenir d'asticot de taille supérieure ou égale à 2 mm par 100 g, et qu'aucune des six unités d'échantillonnage examinées ne doit contenir plus de 5 asticots de taille supérieure ou égale à 2 mm par 100 g.

4.4 Nématodes

4.4.1 Le lot répond aux exigences des Articles 4, 5 et 7 de la Loi des aliments et drogues lorsque $n = 6$, $c = 0$, $m = 0/100$ g et $M = 0/100$ g. Ce qui signifie qu'aucune des 6 unités d'échantillonnage ne peut contenir de nématodes.

4.5 Acariens

4.5.1 Le lot répond aux exigences des Articles 4, 5 et 7 de la Loi des aliments et drogues lorsque $n = 6$, $c = 2$, $m = 20/100$ g et $M = 75/100$ g. Ce qui signifie que sur six unités d'échantillonnage examinées, pas plus de deux unités ne doivent contenir plus de 20 acariens par 100 g, et qu'aucune des six unités d'échantillonnage examinées ne doit contenir plus de 75 acariens par 100 g.

4.6 Moisissures

4.6.1 Le lot répond aux exigences des Articles 4, 5 et 7 de la Loi des aliments et drogues lorsque, en moyenne, dans six unités d'analyse, on ne trouve pas plus que 10% par poids de champignons en décomposition.

4.7 La présence d'organismes vivants dans une unité d'échantillonnage rend le lot inacceptable.

5. RÉFÉRENCES

5.1 Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1984. 14^e éd., Arlington, VA.