



**PROCÉDURE D'ÉLABORATION ET DE GESTION DES MÉTHODES
MICROBIOLOGIQUES DANS LES ALIMENTS**

**PARTIE 1 : DÉFINITIONS ET EXPLICATIONS DES MÉTHODES
ET DES PROCÉDURES GÉNÉRALES**

Comité des méthodes microbiologiques

Division de l'évaluation

Bureau des dangers microbiens

Direction des aliments

Direction générale des produits de santé et des aliments

Centre de recherche Sir Frederick G. Banting [LP 2204A1]

Ottawa (Ontario) K1A 0L2

Courriel: Don_Warburton@hc-sc.gc.ca

1. OBJET

Définir les procédures à suivre dans l'élaboration et la gestion des méthodes microbiologiques dans les aliments pour insertion dans le *Compendium de méthodes analytiques*. Ces méthodes sont élaborées ou validées par Santé Canada (SC) et l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA), ainsi que par d'autres organismes de réglementation, des universités et des entreprises privées, et sont utilisées dans l'application de la *Loi sur les aliments et drogues* et de son *Règlement* d'application. Le Comité des méthodes microbiologiques (CMM) a étudié, révisé et accepté ce document, qui remplace la version datée d'avril 1999.

2. DÉFINITION DES TERMES

Des définitions supplémentaires peuvent être retrouvées dans d'autres parties de ce document.

2.1 Méthode :

Une procédure analytique appliquée à un aliment complet, un échantillon d'aliment en cours, un ingrédient alimentaire ou à l'environnement de l'établissement alimentaire et parfois, à des spécimens cliniques.

Les méthodes traitées dans le *Compendium de méthodes analytiques* s'appliquent en général au produit final, c.-à-d. au produit fini ou aux aliments offerts pour la vente. De plus, ces méthodes peuvent servir à établir des bases de données portant principalement sur les produits finis, mais également sur les ingrédients. Les échantillons environnementaux sont analysés afin de déterminer si les aliments ont été produits dans des conditions hygiéniques. Ces méthodes peuvent se distinguer des méthodes utilisées pendant la fabrication, dont les fabricants se servent à des fins de contrôle et pour assurer que les procédés ont été contrôlés comme il se doit.

Les méthodes utilisées doivent satisfaire aux exigences des tests spécifiques. Par exemple, que ce soit pour analyser un produit fini, des ingrédients ou des échantillons environnementaux, seules les méthodes qui respectent les critères du test (y compris la sensibilité et la spécificité, etc.) doivent être utilisées.

2.2 Méthode officielle :

Définie à l'article A.01.010 du Règlement sur les aliments et drogues comme étant une méthode d'analyse ou d'examen désignée comme telle par le directeur pour usage dans l'application de la Loi et des présents règlements. Le directeur est le sous-ministre adjoint (article A.01.010). L'article A.01.010 énonce que le directeur doit, sur demande, fournir des exemplaires des méthodes officielles.

Une méthode officielle, désignée par le code « MFO- » et la date de publication qui figure en haut à droite du document, est publiée dans le volume 1 du *Compendium de méthodes analytiques*. Une méthode officielle a les mêmes attributs et caractéristiques techniques qu'une méthode de la DGPS (voir ci-dessous). Elle est toutefois plus concise, ne contient pas autant de détails qu'une méthode de la DGPS et ne prévoit pas d'étapes facultatives.

2.3 Méthode de la DGPS¹ :

Une méthode qui peut être utilisée pour déterminer s'il y a conformité à diverses normes et lignes directrices. Une méthode de la DGPS, désignée par le code « MFHPB- » et la date de publication qui figurent en haut à droite du document, est publiée dans le volume 2 du *Compendium de méthodes analytiques*.

Une méthode de la DGPS est une méthode d'analyse entièrement validée et documentée. Les attributs d'une méthode de la DGPS sont comme suit:

1. provient ou est évaluée au moyen de données analytiques produites dans un laboratoire du gouvernement canadien (ou équivalent) [CMM, juin 2000]²; et
2. est validée au moyen d'un des éléments suivants :
 - a) une étude comparative³ ou une étude en collaboration (**à laquelle participent un minimum de 3 à 5 et jusqu'à 15 laboratoires indépendants**); ou
 - b) des processus d'élaboration de méthode opérationnelle (EMO)⁴; ou
 - c) des données sur le rendement de la méthode recueillies à partir de sources variées sur une période de temps, y compris les publications scientifiques analysées

¹Le 1^{er} juillet 2000, la Direction générale de la protection de la santé (DGPS) est devenue la Direction générale des produits de santé et des aliments (DGPSA). La désignation « Méthode de la DGPS » restera la même.

²« Ou équivalent » peut comprendre des organismes de normalisation de méthodes comme l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC), le Bacteriological Analytical Manual (BAM) de la Food and Drug Administration américaine, l'American Public Health Association (APHA), la Commission internationale pour la définition des caractéristiques microbiologiques des aliments (CIDCMA), la Fédération internationale de laiterie (FIL) et l'Organisation internationale de normalisation (ISO) et autres organisations considérées acceptables par le CMM.

³Voir la section 2.8. Une étude comparative faisant appel à des échantillons contaminés naturellement est préférable. Cependant, cela n'est pas toujours pratique. Par conséquent, une étude comparative effectuée à l'aide d'échantillons contaminés artificiellement, sera acceptable.

⁴L'élaboration de méthode opérationnelle est définie à la section 2.7.

- par des pairs, et d'autres agences nommées dans la note 2 en bas de page; et
- est conforme à un format précis [CMM, juin 2000]. Un exemplaire de la méthode avec les données brutes et les sommaires justificatifs doit être fourni, révisé et accepté par le CMM avant de recevoir le statut de « méthode de la DGPS » [CMM, juin 2000];
 - est conforme, selon le CMM, aux normes appropriées d'une méthode réglementaire; et
 - doit être publiée comme Procédure de laboratoire pendant au moins un an [CMM, décembre 1995, mai 1996 et mai 1998]. Voir le tableau 1 pour des détails supplémentaires sur la mise à niveau d'une procédure de laboratoire à une méthode de la DGPS.

Les caractéristiques techniques d'une méthode de la DGPS comprennent les caractéristiques suivantes : 1. degré approprié d'exactitude, de précision et de spécificité démontré par une étude interlaboratoire et 2. application pratique compte tenu de son utilisation prévue. Les caractéristiques techniques ou critères de rendement doivent atteindre ou dépasser les critères suivants lorsqu'ils sont comparés à ceux d'une méthode normalisée ou de référence (normalement une méthode MFHPB ou MFO) :

- Sensibilité relative ≥ 98 %,
- Spécificité relative $\geq 90,4$ %,
- Taux de faux négatifs $< 2,0$ %,
- Taux de faux positifs $< 9,6$ %,
- Efficacité ≥ 94 %, et
- Niveau de détection: la méthode doit être comparable à la limite de détection de la méthode normalisée ou l'excéder (habituellement 3-5 ufc/25 g) ou doit être capable de détecter ≤ 3 ufc par g ou ml [CMM, juin 2000, mai 2005]⁵. Chaque méthode sera comparée à ces critères dans chaque cas [CMM, février 1995]. Les définitions et les formules sont expliquées dans le tableau 2.

2.4 Procédure de laboratoire :

Une méthode qui n'est pas validée par une étude interlaboratoire ou qui n'est pas conforme aux attributs ou aux caractéristiques d'une méthode de la DGPS. Une procédure de laboratoire, désignée par le code « MFLP- » et la date de publication qui figurent en haut à droite du document, est publiée dans le volume 3 du *Compendium de méthodes analytiques*.

Les attributs d'une procédure de laboratoire sont les suivants :

- provient ou est évaluée au moyen de données analytiques produites dans un laboratoire du gouvernement canadien (ou équivalent) [CMM, juin 2000]²;
- est validée par au moins un autre laboratoire de la DGPSA ou de l'ACIA (ou équivalent [CMM, juin 2000]²) ou une validation acceptable dans une publication d'un journal révisée par des pairs [CMM, mai 2005];
- est conforme à un format précis [CMM, juin 2000]. Un exemplaire de la méthode avec les données brutes et les sommaires justificatifs doit être fourni, révisé et accepté par le CMM avant de recevoir le statut de « procédure de laboratoire » [CMM, juin 2000];
- le CMM juge qu'elle pourrait satisfaire aux normes appropriées d'une méthode réglementaire.

Les caractéristiques techniques des procédures de laboratoire comprennent (tableau 2) :

- degré approprié d'exactitude, de précision et de spécificité établi par au moins deux laboratoires (DGPSA ou ACIA) (ou l'équivalent [CMM, juin 2000]), et 2. application pratique compte tenu de son utilisation prévue. Les caractéristiques techniques ou critères de

rendement doivent atteindre ou dépasser les critères suivants lorsqu'ils sont comparés à ceux d'une méthode normalisée ou de référence:

1. Sensibilité relative ≥ 98 %,
2. Spécificité relative $\geq 90,4$ %,
3. Taux de faux négatifs $< 2,0$ %,
4. Taux de faux positifs $< 9,6$ %,
5. Efficacité ≥ 94 %,
6. Niveau de détection: la méthode doit être comparable à la limite de détection de la méthode normalisée ou l'excéder (habituellement 3-5 ufc/25 g) ou doit être capable de détecter ≤ 3 ufc par g ou ml [CMM, juin 2000, mai 2005]⁵. Chaque méthode sera comparée à ces critères dans chaque cas [CMM, février 1995].

NOTE : Il est possible d'avoir accès à d'autres documents connexes sur les procédures d'élaboration interne ou la validation de méthodes établies dans le volume 1 du <i>Compendium de méthodes analytiques</i> .
--

2.5 Méthodes équivalentes :

Comme il a été décrit précédemment, toutes les méthodes ont été classées selon leur degré de validation. Toutes les méthodes officielles (MFO), les méthodes de la DPGS (MFHPB) et les procédures de laboratoire (MFLP) respectent les critères minimaux d'une méthode du Compendium précisés pour cette catégorie. Pour toute analyse, la méthode du Compendium la plus efficace (telle que décrite ci-dessous) doit être utilisée. Bien que les MFLP puissent ne pas avoir été validées de façon aussi poussée ou au même niveau que les méthodes de la DPGS, elles ont souvent une spécificité et une sensibilité analytiques supérieures selon les données disponibles auprès d'agences internationales reconnues.

Les laboratoires doivent utiliser la méthode la plus efficace (**c.-à-d., la meilleure ou la plus appropriée**) de sorte que : 1. la méthode est appropriée à l'objectif et peut être utilisée pour analyser la denrée en question de sorte que les résultats de l'analyse sont fiables; 2. les analyses sont terminées en temps opportun; 3. la santé et la sécurité des Canadiens et Canadiennes sont assurées; 4. la durée de conservation du produit n'est pas compromise.

NOTE: Il est crucial de vérifier la section « Application » de chaque méthode avant de l'utiliser de façon à déterminer si elle est applicable à l'aliment ou au spécimen environnemental en cause. L'applicabilité des méthodes à de nouvelles matrices nécessite une validation. Il est fortement recommandé que les données de validation soient soumises au CMM pour une modification possible de la méthode.
--

2.6 Le Comité des méthodes microbiologiques (CMM) :

Le regroupement de tous les services fédéraux d'inspection des aliments en une seule agence fédérale d'inspection des aliments a renforcé la responsabilité de Santé Canada dans le domaine des activités de normalisation portant sur la salubrité des aliments, y compris l'élaboration et la distribution des méthodes d'analyse. Le CMM est constitué de spécialistes gouvernementaux fédéraux.

⁵ Phrase révisée

Le CMM est chargé de fournir des méthodes d'analyse microbiologique d'aliments pour appuyer l'administration de la *Loi sur les aliments et drogues* et son *Règlement*, des lignes directrices, des activités de collecte de données, des bonnes pratiques de fabrication et du système d'analyse des dangers et maîtrise des points critiques (*Hazard Analysis Critical Control Point* - HACCP). Le CMM joue un rôle actif dans l'harmonisation des méthodes et la coordination des études qui portent sur les méthodes telles que les activités de collecte de données, les enquêtes et les activités HACCP. Il est question, plus loin dans le présent document, des rôles précis du CMM dans le domaine de l'élaboration de méthodes.

2.7 Élaboration de méthode opérationnelle (EMO) :

Cette expression désigne l'élaboration, la validation et la comparaison d'une méthode à une méthode normalisée par au moins deux laboratoires. Pendant une certaine période (habituellement un à deux ans), des données qui démontrent si une méthode peut avoir le statut de procédure de laboratoire (ou un autre statut) sont recueillies. Ces activités produisent des données supplémentaires pour hausser le statut de la méthode et en étendre la portée, et elles peuvent être considérées comme une étude en collaboration d'envergure limitée.

2.8 Études comparatives et en collaboration :

Une étude comparative compare la méthode en cours d'élaboration (telle qu'une « trousse d'analyse rapide ») à la méthode normalisée et fait habituellement appel à de multiples laboratoires qui analysent des échantillons naturellement contaminés obtenus localement ou dans une région précise. Chaque laboratoire analyse ensuite les échantillons selon leur propre calendrier, mais selon un protocole précis. Bien que des échantillons naturellement contaminés soient préférables, lorsque certains microorganismes sont ciblés (par ex., *E. coli* O157:H7), des échantillons artificiellement contaminés sont nécessaires pour obtenir un nombre suffisant d'échantillons.

Une étude en collaboration compare la méthode en cours d'élaboration (telle qu'une « trousse d'analyse rapide ») à la méthode normalisée et fait habituellement appel à plusieurs laboratoires qui analysent des aliquotes d'échantillons artificiellement contaminés fournis par le laboratoire organisateur ou de référence. Chaque laboratoire analyse ensuite les échantillons dans un délai précis selon un protocole précis. Des aliquotes provenant d'échantillons naturellement contaminés peuvent également être envoyées à chaque participant.

2.9 Groupes techniques (GT) :

Ces comités sont créés au besoin par le CMM et sont chargés d'étudier des données, des méthodes, des communications publiées et de présenter au CMM des recommandations au sujet d'une méthode ou d'un problème en particulier. Les GT peuvent être constitués de spécialistes de SC et de l'ACIA, ainsi que d'autres organisations.

2.10 Modifications des méthodes :

Voir la partie 2 pour les procédures sur l'acceptation des modifications des méthodes.

3. **ÉNONCÉ DE POLITIQUE AU SUJET DES MÉTHODES MICROBIOLOGIQUES DANS LES ALIMENTS UTILISÉES PAR LA DIRECTION GÉNÉRALE DES PRODUITS DE SANTÉ ET DES ALIMENTS**

En suivant les procédures décrites ci-dessous, le Bureau des dangers microbiens (BDM) cherche à instaurer graduellement la plus grande conformité possible avec les méthodes adoptées par des organisations de normalisation comme l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC), le Bacteriological Analytical Manual (BAM) de la Food and Drug Administration (États-Unis), l'American Public Health Association (APHA), la Commission internationale pour la définition des caractéristiques microbiologiques des aliments (CIDCMA), la Fédération internationale de laiterie (FIL) et l'Organisation internationale de normalisation (ISO), chaque fois que c'est compatible avec la sécurité du consommateur canadien.

La politique ci-dessus a été adoptée pour les raisons suivantes :

1. Les organisations susmentionnées sont pour la plupart des organisations internationales dont les méthodes sont distribuées et utilisées dans le monde entier.
2. Bon nombre de méthodes de l'AOAC sont actuellement utilisées aux États-Unis et au Canada par des organismes des secteurs de la santé publique et de l'agriculture chargés de la salubrité des aliments.
3. Le gouvernement du Canada veut supprimer, lorsque cela convient, les obstacles au libre-échange, y compris les différences au niveau des méthodologies. La politique énoncée ci-dessus est conforme à ce but.
4. La DGPSA participe activement aux travaux de l'AOAC et d'autres organismes et appuie leurs objectifs depuis plus de trois décennies.
5. Les méthodes de l'AOAC sont déjà répandues au Canada, particulièrement dans les domaines de la chimie et de la nutrition. Dans le secteur de compétences du BDM, les méthodes de l'AOAC sont utilisées pour la détection des matières étrangères dans les aliments et des toxines paralysantes dans les mollusques.
6. Plusieurs scientifiques du BDM participent activement aux travaux du Comité des méthodes de microbiologie de l'AOAC, ce qui permet aux scientifiques du BDM de soumettre des méthodes qu'ils ont mises au point pour validation dans le cadre d'études en collaboration de l'AOAC et adoption comme méthode finale officielle. Le groupe participe également aux travaux de la CIDCMA, de l'ISO et de l'APHA.
7. En raison du peu de ressources en personnel du BDM, de l'intérêt croissant des entreprises commerciales dans la commercialisation de produits qui ont trait aux méthodes, du développement rapide de méthodes liées à la biotechnologie et du fait que l'on est de plus en plus sensibilisé à l'importance du grand nombre d'agents pathogènes « nouveaux » dans le domaine de la santé publique, il est devenu impossible pour le BDM d'évaluer l'acceptabilité de la totalité, voire même d'une partie, des mises à jour des méthodes microbiologiques alimentaires courantes. C'est pourquoi il faut compter sur d'autres organismes pour la validation des méthodes afin de promouvoir l'utilisation par la DGPSA de méthodes à jour en microbiologie alimentaire.

Les méthodes provenant d'autres organismes de normalisation seront acceptées comme procédures de laboratoire (MFLP) si les critères du CMM sont respectés, et selon les besoins, la validation normale suivra, et ce, jusqu'à des niveaux plus élevés (méthodes de la DGPS (MFHPB) ou méthodes officielles (MFO)).

4. FONCTIONS DU COMITÉ DES MÉTHODES MICROBIOLOGIQUES

1. Sous la direction du président, coordonner l'élaboration et la publication des méthodes microbiologiques dans les aliments qu'utiliseront SC, l'ACIA et d'autres laboratoires.

2. Établir des groupes techniques (GT), préciser les méthodes qu'il faut diriger et assurer que les GT demeurent actifs dans l'exécution de cette tâche et dans la revue de la littérature dans le domaine de la méthodologie dont chaque groupe est chargé.
3. Examiner les méthodes et les documents présentés par les GT ou des chercheurs en particulier et s'assurer qu'ils sont opportuns, complets, que leur format est approprié et qu'ils ont été classés en fonction des critères définis ci-dessus. Décider s'il faut rejeter la version préliminaire parce qu'elle n'a aucune valeur comme procédure analytique acceptable ou s'il faut la garder pour une possible mise à niveau future comme méthode de la DGPS.
4. Trancher toute divergence qui peut persister entre les membres du personnel technique qui ont rédigé les projets de méthodes ou les ont commentés.
5. Veiller à ce que les méthodes déjà établies soient étudiées et révisées en fonction de nouveaux renseignements au moins une fois aux cinq ans.
6. Évaluer et déterminer régulièrement quelles nouvelles méthodes seront incluses ou mises à niveau.
7. Voir à publier rapidement et correctement les méthodes sur le site Internet de SC.
8. Dans le cas des projets liés à des méthodes approuvés par la direction, confier à une personne compétente la planification, la surveillance, l'évaluation et la production de rapport des résultats de l'étude en collaboration.

Tableau 1. But de la publication d'une méthode MFLP avant sa mise à niveau comme méthode MFHPB.

Le but de la publication d'une méthode MFLP au moins un an dans le *Compendium de méthodes analytiques*⁶ est de déterminer si la méthode fonctionnera de manière satisfaisante dans diverses conditions d'utilisation (telles que l'environnement, l'endroit et le changement de personnel) qui ne sont normalement pas prises en considération lors d'une étude en collaboration.

Cette approche est particulièrement importante dans les scénarios suivants :

1. Lorsque l'étude de validation est réalisée à l'aide d'échantillons qui ne sont pas inclus dans la *Loi sur les aliments et drogues*;
2. Lorsqu'une variété réduite de matrices est utilisée;
3. Lorsque la portée de l'étude initiale ne couvre pas l'« application » de la méthode;
4. Lorsqu'il y a toute question à savoir si tous les critères du statut de la méthode de la DGPS ont été respectés;
5. Lorsque la méthode a été validée par un nombre limité de laboratoires (moins que le minimum de 3 à 5 laboratoires; dans le passé, tous les laboratoires régionaux de SC et les laboratoires d'autres agences étaient utilisés pour atteindre le total de 15); et
6. Lorsque plus de 75 % des échantillons utilisés dans l'étude en collaboration sont artificiellement contaminés.

Au besoin, le CMM orientera l'auteur de la méthode en indiquant les besoins ou les exigences spécifiques nécessaires à la mise à niveau de la méthode à un statut supérieur.

Tel qu'applicable après la publication d'un an, le CMM examinera l'information et les données recueillies au cours de cette année pour déterminer si la MFLP respecte tous les critères pour devenir une méthode MFHPB. Toute donnée supplémentaire générée sera examinée dans chaque cas par le CMM et si tous les critères pour une méthode MFHPB sont respectés, alors la méthode peut être mise à niveau.

⁶ Publié sur le site Internet de Santé Canada : www.hc-sc.gc.ca/food-aliment

Tableau 2. Critères pour une méthode

N O U V E L L E M É T H O D E	Méthode standard		
		Positifs	Négatifs
	Positifs	A (200)	B (38)
	Négatifs	C (0)	D (400)

Les valeurs d'exemple sont entre parenthèses ci-dessus.

A: le nombre d'échantillons trouvés positifs par les deux méthodes

B: le nombre d'échantillons trouvés positifs par la « nouvelle méthode », mais négatifs par la « méthode standard »

C: le nombre d'échantillons trouvés positifs par la « méthode standard », mais négatifs par la « nouvelle méthode »

D: le nombre d'échantillons trouvés négatifs par les deux méthodes

Sensibilité : $\frac{A}{(A + C)} = \frac{200}{200} = 100 \%$

Spécificité : $\frac{D}{(B + D)} = \frac{400}{438} = 91,3 \%$

Taux de faux négatifs : $\frac{C}{(A + C)} = \frac{0}{200} = 0 \%$

Taux de faux positifs : $\frac{B}{(B+D)} = \frac{38}{438} = 8,7 \%$

Efficacité : $\frac{A + D}{(A + B + C + D)} = \frac{600}{638} = 94 \%$