



DIRECTION GÉNÉRALE DES PRODUITS DE SANTÉ ET DES ALIMENTS

OTTAWA

SUPPLÉMENT À L'ANNEXE I

**Comité des méthodes microbiologiques
Division de l'évaluation microbiologique
Bureau des dangers microbiens, Direction des aliments
Direction générale des produits de santé et des aliments, Santé Canada
Indice de l'adresse : 2204A1
Ottawa (Ontario) K1A 0L2**

Courriel: Don_Warburton@hc-sc.gc.ca

**A. DIRECTIVES GÉNÉRALES EN MICROBIOLOGIE SUR LE PRÉCHAUFFAGE DE BOUILLONS DANS
TOUTES LES MÉTHODES QUALITATIVES DU COMPENDIUM**

1. APPLICATION

Les renseignements qui suivent sont présentés à titre de supplément à toutes les méthodes qualitatives (présence-absence) du *Compendium de méthodes analytiques* et ils doivent être utilisés dans ce contexte, sauf indications contraires. Ce supplément vise à fournir des renseignements supplémentaires sur le préchauffage de bouillons.

2. MARCHE À SUIVRE

Préparation de l'échantillon

Procédures d'enrichissement

Des renseignements généraux sont fournis dans chaque méthode en ce qui a trait aux bouillons de pré-enrichissement et d'enrichissement appropriés pour un organisme et un test particuliers. En plus de ces renseignements, les instructions suivantes doivent être appliquées.

Lors du regroupement des unités d'échantillonnage et pour les unités d'échantillonnage d'un poids supérieur à 25 g, tous les bouillons d'enrichissement initiaux doivent être chauffés à environ la température d'incubation avant de procéder à la dilution des échantillons avec le bouillon, à l'exception d'une analyse dont la température d'incubation est supérieure à 35 °C, tels que *E. coli* O157, *Shigella* spp. et *Vibrio cholera*. Le bouillon de ces analyses doit être préchauffé à environ 35 °C.

Pour les bouillons d'enrichissement secondaire, ainsi que pour les unités d'échantillonnage de 25 g ou moins, il est acceptable que la température du bouillon soit augmentée seulement à la température ambiante avant de procéder à l'analyse.

Un bouillon qui a été préchauffé ne doit pas être chauffé puis réfrigéré de façon répétitive. Il est recommandé qu'un bouillon préchauffé lors du troisième cycle de préchauffage (c.-à-d., qui a été préchauffé puis réfrigéré deux fois auparavant) soit jeté à la fin de la journée s'il n'est plus requis. Un bouillon qui contient des antibiotiques ou d'autres suppléments doit être préchauffé seulement une fois puis jeté s'il n'est pas requis. Les laboratoires doivent valider leurs pratiques individuelles pour déterminer si des effets adverses surviennent, dans le cas d'un bouillon chauffé et réfrigéré de façon répétitive plus souvent que le nombre de cycles recommandé.

Note : Le maintien des milieux à une température élevée pendant une période de temps prolongée peut nuire dépendant de la formule individuelle, et ce facteur doit être pris en considération lors du choix d'une procédure opératoire normalisée de préchauffage.

B. MESURER LE pH DES DILUANTS ET DES BOUILLONS D'ENRICHISSEMENT

Bien que cela ait été mentionné dans les versions précédentes de certaines méthodes, l'ajustement du pH du diluant avec la matrice alimentaire avant l'ensemencement n'est pas recommandé pour les méthodes quantitatives, sauf lorsque précisé par le fabricant (par exemple, 3M exige un ajustement pour les Petrifilm). Cela permettra au produit d'être évalué « tel que présenté » au consommateur, empêchant tout biais (positif ou négatif) qui en découlerait si le pH était ajusté avant l'ensemencement. Ce point sera corrigé dans les versions révisées de ces méthodes.

Pour les méthodes qualitatives, l'ajustement du pH du bouillon d'enrichissement avec la matrice alimentaire est encore nécessaire s'il est mentionné dans la méthode.

C. UTILISATION DE RÉACTIFS COMMERCIAUX

Épreuves du rouge de méthyle et de Voges Proskauer

Il est reconnu que ces tests microbiens normalisés sont offerts commercialement comme réactifs complets. Ils présentent souvent une plus longue durée de conservation et sont plus conviviaux et fiables que les réactifs et les solutions préparées à l'interne. Des réactifs commerciaux peuvent être substitués à ceux listés dans les méthodes si les instructions du fabricant pour la reconstitution et l'utilisation ultérieure sont suivies.

Consultez l'annexe I pour d'autres renseignements généraux à propos de l'utilisation des réactifs commerciaux.

D. CONFIRMATION DES COLONIES PRÉSOMPTIVES DANS LES MÉTHODES QUALITATIVES

Les instructions suivantes peuvent être suivies pour toutes les méthodes qualitatives:

Si les colonies sont bien isolées sur les géloses sélectives: Transférer un minimum de 5 à 10 colonies typiques à partir de chacune des géloses sélectives sur les géloses de purification (tel que spécifié dans la méthode originale). Simultanément, transférer la même colonie dans des tubes ou des plaques contenant des géloses ou agents biochimiques (par exemple: mobilité, TSI, LIA, urée et citrate en pentes).

Si les colonies ne sont PAS bien isolées sur les géloses sélectives: Transférer un minimum de 5 à 10 colonies typiques à partir de chacune des géloses sélectives sur les géloses de purification (tel que spécifié dans la

méthode originale), en striant pour bien séparer. Incuber les boîtes pendant 24 à 48 heures ou jusqu'à ce que la croissance soit satisfaisante. Au besoin, examiner les boîtes pour la présence de colonies typiques et purifier à nouveau si nécessaire. Sinon, procéder aux étapes de confirmation décrites dans la méthode.