



Government of Canada

Gouvernement du Canada

Méthode de la DPGS

MFHPB-20
avril 1998

DIRECTION GÉNÉRALE DE LA PROTECTION DE LA SANTÉ

OTTAWA

ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES *SALMONELLA* DANS LES ALIMENTS

J.-Y. D'Aoust¹ et U. Purvis²

**¹ Division de la recherche
Direction générale de la protection de la santé
Santé Canada, Repère postal : 2204A2
Ottawa (Ontario) K1A 0L2**

**² Région de l'Ontario
Direction générale de la protection de la santé, Santé Canada
Scarborough (Ontario) M1P 4R7**

1. APPLICATION

Cette méthode peut servir à détecter la présence de *Salmonella* viables dans les aliments afin de déterminer s'il y a conformité aux articles 4 et 7 de la *Loi sur les aliments et drogues*. Lorsqu'une méthode officielle est prescrite pour certains aliments, il faut la suivre. La présente version révisée remplace la méthode MFHPB-20 de septembre 1978.

La présente version révisée comprend les modifications importantes suivantes apportées à la méthode analytique de détection des *Salmonella* spp. d'origine alimentaire :

- 1) Suppression du pré-enrichissement de la noix de coco lié au Tergitol-7.
- 2) Utilisation de la méthode de trempage (7.1) pour le pré-enrichissement du lait écrémé et d'autres produits laitiers en poudre.
- 3) Utilisation facultative de cultures réfrigérées de pré-enrichissement et d'enrichissement d'aliments déshydratés ou transformés afin d'améliorer la productivité et la flexibilité au laboratoire.
- 4) Définition de deux catégories de dangers dans le cas des épices, c'est-à-dire épices ajoutées aux aliments à faire cuire (n=5, danger réduit) et épices utilisées pour assaisonner des aliments préparés avant la consommation (n=10, danger inchangé).
- 5) Inclusion de l'eau peptonée tamponnée (EPT) comme équivalent du bouillon nutritif pour l'enrichissement d'aliments en milieu non sélectif.

2. PRINCIPE

La méthode comporte six étapes distinctes. La manipulation initiale de l'aliment et l'enrichissement en milieu non sélectif (pré-enrichissement) varient selon le type d'aliment examiné (7.6).

2.1 Enrichissement en milieu non sélectif (pré-enrichissement).

Ensemencer d'abord l'échantillon d'analyse dans un milieu liquide non inhibiteur afin de favoriser la récupération et la croissance de salmonelles soumises à un stress ou endommagées par des facteurs sublétaux comme l'exposition à la chaleur, la congélation, la déshydratation, les agents de conservation, une forte pression osmotique ou d'importantes fluctuations de température (7.1; 7.6).

2.2 Enrichissement en milieu sélectif

Ensemencer des portions subdivisées de chaque culture de pré-enrichissement dans deux milieux d'enrichissement afin de favoriser le développement des salmonelles tout en retardant ou en inhibant celui de micro-organismes qui leur font concurrence (7.4).

2.3 Culture sur gélose sélective

Ensemencer en stries les cultures d'enrichissement sur des géloses sélectives différentielles pour isoler les salmonelles (7.5).

2.4 Purification

Les isolats présumés de *Salmonella* sont purifiés sur gélose de MacConkey.

2.5 Sélection biochimique

Les isolats sont identifiés en fonction de réactions biochimiques déterminantes.

2.6 Identification sérologique

On utilise des antisérums polyvalents ou monovalents pour confirmer l'identification provisoire des isolats comme membres de la famille des *Salmonella spp.* Il faut envoyer les cultures à un centre spécialisé pour obtenir le sérotypage complet et confirmer l'identification.

3. DÉFINITIONS

Voir l'annexe A du Volume 2.

4. PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

4.1 Échantillonnage

Voir l'annexe B du Volume 2 et le Tableau III.

4.1.1 Rigueur de l'échantillonnage

Les efforts de surveillance des aliments sont souvent axés sur des procédés et des produits qui présentent des risques importants pour la santé des êtres humains. La Commission internationale pour la définition des caractéristiques microbiologiques des aliments (CIDCMA) a classé les aliments selon le degré de risque associé à leur consommation. À chaque catégorie d'aliments correspond un plan d'échantillonnage assez rigoureux pour déterminer l'acceptabilité du produit fini (Tableau I).

4.1.2 Plans d'échantillonnage pour analyse « régulière » et pour analyse « à des fins d'enquête »

Il y a trois degrés de risque (Tableau I) associés à la présence de *Salmonella* dans les aliments et les ingrédients alimentaires. Le tableau II décrit les circonstances qui imposent un échantillonnage pour analyse « régulière » et « à des fins d'enquête ». Les plans d'échantillonnage pour analyse « régulière » permettent de détecter des niveaux de contamination qui peuvent exiger une intervention réglementaire. Ces résultats peuvent également entraîner un examen plus approfondi des produits. Diverses circonstances peuvent justifier un échantillonnage pour analyse « à des fins d'enquête ». Le choix du plan d'échantillonnage peut obliger à poser un jugement en partie subjectif

en raison du nombre et de la nature des facteurs contribuant au degré de risque.

5. MATÉRIEL ET PRODUITS SPÉCIAUX

- 1) Bouillon nutritif
- 2) Bouillon de trypticase soja (peptone trypsique, tryptone)
- 3) Solution aqueuse de vert brillant
- 4) Eau peptonée tamponnée (EPT)
- 5) Milieu au lait écrémé
- 6) Bouillon au tétrathionate additionné de vert brillant
- 7) Bouillon de sélénite additionné de cystine
- 8) Gélose au sulfite de bismuth
- 9) Gélose à la sulfapyridine additionnée de vert brillant
- 10) Gélose de MacConkey
- 11) Gélose nutritive
- 12) Gélose aux trois sucres et au fer
- 13) Gélose lysine-fer
- 14) Gélose à l'urée de Christensen
- 15) Trousses commerciales d'analyse biochimique
- 16) Antisérums polyvalents et monovalents somatiques (O) et flagellaires (H)
- 17) Solution physiologique
- 18) Mélangeur, Stomacher ou autre homogénéisateur
- 19) Incubateur ou bain-marie capable de maintenir des températures de $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ et de $43\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$.

6. MARCHE À SUIVRE

6.1 Manipulation des unités d'échantillonnage

- 6.1.1 Analyser les échantillons le plus tôt possible. Au besoin, conserver les échantillons pendant une période et à une température qui empêcheront la croissance ou la destruction de la microflore endogène. Si des unités d'échantillonnage ont été maltraitées en transit, il faut échantillonner à nouveau le lot.
 - a. Aliments surgelés : On peut garder au congélateur (entre -10 et -20 °C) les unités d'échantillonnage qui ne présentent aucun signe de décongélation à la réception.

- b. Les aliments séchés et les aliments de longue conservation peuvent être gardés à la température ambiante.
- c. Réfrigérer tous les autres aliments, y compris ceux qui arrivent partiellement décongelés; analyser les échantillons le plus rapidement possible, mais de préférence dans les 24 heures suivant leur réception.

6.1.2 Faire décongeler les échantillons congelés en 60 minutes à la température ambiante; si c'est impossible, il faut les laisser décongeler au réfrigérateur (entre 4 et 10 °C).

NOTE :

- a) Il se peut que les échantillons volumineux (dinde entière, par exemple) ne dégèlent pas facilement au réfrigérateur. Pour accélérer le processus, déposer l'échantillon congelé dans un sac de papier et le laisser décongeler toute la nuit à la température ambiante. Avec cette technique, la surface du produit demeure froide pendant la décongélation.
- b) Il faut prévoir des contenants appropriés pour recueillir les égouttures du produit et éviter ainsi de contaminer le laboratoire.

6.1.3 Si le poids de l'unité d'échantillonnage reçue pour analyse est inférieur au poids recommandé, analyser la quantité disponible et consigner le poids exact utilisé.

6.1.4 Dans le cas des échantillons qu'il faut mélanger avec un appareil, limiter le temps de traitement au minimum nécessaire pour obtenir une suspension homogène. Un temps de traitement excessif peut causer des dommages physiques qui peuvent nuire à la viabilité de la microflore endogène.

Dans le cas des produits qui n'ont pas besoin d'être mélangés, disperser l'unité d'analyse dans le bouillon de pré-enrichissement approprié.

6.1.5 Utiliser des techniques aseptiques et du matériel stérile à toutes les étapes de l'analyse. La sécurité pendant la manipulation des produits en poudre est primordiale si l'on veut éviter la contamination croisée du milieu de travail.

6.2 Enrichissement en milieu non sélectif (pré-enrichissement)

6.2.1 Groupement des unités d'analyse

Afin de réduire la charge de travail, on peut réunir jusqu'à 15 unités d'analyse de 25 g (mL) en un seul échantillon d'analyse (p. ex., de 375 g ou mL).

Si une unité d'échantillonnage comporte plus d'un contenant, mélanger dans des conditions d'asepsie le contenu des contenants avant d'en tirer l'unité d'analyse. Si ce n'est pas possible ou pratique, l'unité d'analyse doit alors être constituée de portions égales de chaque contenant.

6.2.2 Analyse des échantillons

6.2.2.1 Ajouter l'unité d'analyse requise au bouillon d'enrichissement non sélectif approprié (Tableau III). Le bouillon nutritif et l'eau peptonée tamponnée (EPT) sont aussi fiables l'un que l'autre et peuvent servir, de façon interchangeable, de milieu général de pré-enrichissement.

6.2.2.2 Si le pH du mélange de pré-enrichissement n'est pas entre 6,0 et 7,0, il faut l'ajuster avec du NaOH 1N ou du HCl 1N.

NOTE : Si l'unité d'échantillonnage est un contenant qui ne renferme qu'une très faible quantité d'aliments, il

faut rincer soigneusement l'intérieur du contenant avec le bouillon de pré-enrichissement approprié et incuber le liquide de rinçage dans un récipient stérile. Le problème se pose plus souvent dans les cas de plaintes de consommateurs ou d'enquêtes sur des intoxications alimentaires.

6.2.2.3 Préparer un témoin positif à l'égard de *Salmonella* et un témoin négatif en même temps que les échantillons d'analyse.

6.2.2.4 Incuber le milieu de pré-enrichissement et les témoins positif et négatif à $35\text{ °C} \pm 0.5\text{ °C}$ pendant 18 à 24 h.

NOTE : Il ne devrait y avoir aucun signe de croissance après l'incubation du témoin négatif; s'il y a absence de croissance dans le témoin positif, les résultats de l'épreuve ne sont pas valables.

6.2.3 Réfrigération des cultures de pré-enrichissement (aliments secs et transformés) - FACULTATIF

6.2.3.1 Cette méthode novatrice consiste à faire réfrigérer pendant 72 h des cultures de pré-enrichissement d'aliments à faible teneur en humidité, ce qui améliore la productivité et la souplesse d'analyse au laboratoire (7.7; 7.8; 7.10; 7.11). Ainsi, on n'est plus obligé d'amorcer l'analyse des échantillons uniquement les lundi et mardi, lorsque la méthode de culture comporte une étape de pré-enrichissement, afin d'éviter le travail en fin de semaine et d'interrompre les analyses uniquement pour réfrigérer les géloses incubées. Plus précisément, la réfrigération en fin de semaine (72 h) des cultures de pré-enrichissement et d'enrichissement (étape 6.3.3 suivante) permet de commencer à analyser des échantillons du lundi au jeudi inclusivement.

6.2.3.2 Les cultures de pré-enrichissement obtenues le vendredi à partir des échantillons analysés la veille sont réfrigérées (à une température se situant entre 4 et 10 °C) pendant la fin de semaine.

6.2.3.3 Le lundi suivant, on remet en suspension le contenu de chaque culture de pré-enrichissement réfrigérée et ensemence des portions subdivisées (1 mL) dans des bouillons TBG₄₃ et SC₃₅.

6.2.3.4 Procéder de la manière décrite aux points 6.3 à 6.7.

6.3 Enrichissement en milieu sélectif

6.3.1 Utiliser une pipette stérile pour transférer 1,0 mL de la culture de pré-enrichissement dans 9 mL de chacun des bouillons de sélénite additionné de cystine (SC) et de tétrathionate additionné de vert brillant (TBG).

6.3.2 Incuber les bouillons SC et TBG pendant $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ à $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ et $43\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ respectivement.

6.3.3 Réfrigération des cultures d'enrichissement (aliments secs et transformés) - FACULTATIF

6.3.3.1 Cette méthode novatrice complète celle qui est décrite en 6.2.3 et améliore la productivité et la souplesse d'analyse au laboratoire.

6.3.3.2 Les cultures dans les bouillons TBG₄₃ et SC₃₅ obtenues le vendredi à partir d'échantillons analysés le mercredi précédent sont réfrigérées (entre 4 et 10 °C) pendant la fin de semaine.

6.3.3.3 Le lundi suivant, on remet en suspension le contenu des cultures dans les bouillons TBG₄₃ et SC₃₅ réfrigérés et ensemence une anse répétée de chaque culture sur des géloses au sulfite de bismuth et à la sulfapyridine additionnée de vert brillant.

6.3.3.4 Procéder de la manière décrite aux points 6.4 à 6.7.

6.4 Isolement sur gélose sélective

- 6.4.1 Ensemencer en stries une anse répétée de chaque culture d'enrichissement sélectif sur une gélose au sulfite de bismuth (BS) et sur une gélose à la sulfapyridine additionnée de vert brillant (BGS) pour obtenir des colonies bien isolées. Les cultures d'enrichissement peuvent également être ensemencées en stries sur d'autres géloses pour l'isolement de *Salmonella*.
- 6.4.2 Incuber les boîtes de gélose à $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ pendant $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$. S'il n'y a pas de colonies indiquant la présence de *Salmonella* sur la gélose BS, incuber les boîtes pendant $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ de plus.
- 6.4.3 Après l'incubation, rechercher dans les boîtes des colonies indiquant la présence de *Salmonella*. Sur la gélose BGS, la couleur des colonies caractéristiques de *Salmonella* varie habituellement du rose au fuchsia, et le milieu qui les entoure est rouge. Sur la gélose BS, les colonies sont noires et peuvent avoir un reflet métallique ou non; si la période d'incubation se prolonge, le milieu qui les entoure noircit progressivement à cause de la production de H_2S .

NOTE :	a.	Les souches de <i>Salmonella</i> qui fermentent le lactose ou le sucrose ou les deux prennent une apparence coliforme (verdâtre) sur la gélose BGS. Une forte croissance d'autres microorganismes peut également masquer la présence de colonies de <i>Salmonella</i> .
	b.	La gélose BS peut retarder la croissance de sérotypes de <i>Salmonella</i> autres que <i>S. typhi</i> , sauf si l'on fait réfrigérer les boîtes de gélose à 4 °C pendant 24 h avant l'ensemencement en stries (7.3).

6.4.4 L'absence de colonies suspectes sur les géloses signifie que les échantillons d'analyse ou les échantillons composés ne contenaient pas de *Salmonella* spp.

6.5 Purification

- 6.5.1 Ensemencer en stries les colonies suspectes sur des boîtes de gélose de MacConkey pour les purifier.
- 6.5.2 Incuber les boîtes de gélose à $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ pendant $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$.
- 6.5.3 Les colonies typiques de *Salmonella* sont lactose-négatives et incolores sur ce milieu. Toutefois, celles des biotypes lactose-positifs sont roses.

6.6 Sélection biochimique

- 6.6.1 Utiliser une aiguille d'ensemencement stérile pour déposer des colonies suspectes dans les milieux biochimiques énumérés au Tableau IV ou dans des trousse de diagnostic commerciales qui donneraient des résultats équivalents. Incuber les milieux biochimiques pendant 18 à 24 h à $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$.

NOTE :	Il est possible d'obtenir des résultats biochimiques erronés si les tubes ont été bouchés hermétiquement au cours de l'incubation.
---------------	--

6.6.2 On peut utiliser des trousse de diagnostic commerciales pour obtenir les profils biochimiques détaillés d'isolats bactériens.

- 6.6.3 Si aucun des isolats d'une unité d'échantillonnage particulière n'indique la présence possible de *Salmonella*, il faut considérer que l'unité d'échantillonnage en est exempte. Si l'on soupçonne la présence de *Salmonella*, il faut passer à l'épreuve sérologique.
- 6.6.4 Si l'épreuve sérologique n'est pas effectuée dans les 72 h suivantes, ensemercer des isolats suspects sur des pentes de gélose nutritive et incuber à $35\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ pendant $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$.
- 6.6.5 Garder les pentes de gélose au réfrigérateur (entre 4 et 10 °C).
- 6.6.6 Il ne faut pas utiliser de pentes de gélose nutritive conservées plus de 72 h pour l'épreuve sérologique. Préparer à cette fin des pentes de gélose fraîches.

6.7 Identification sérologique

6.7.1 Épreuve avec antisérum somatique polyvalent

- 6.7.1.1 Sur la lame d'agglutination, délimiter les zones suivantes : C+ (témoin positif), C- (témoin négatif) et T (culture d'essai).
- 6.7.1.2 Déposer une goutte de solution physiologique sur chacune des zones T et C+, et deux gouttes sur la zone C-.
- 6.7.1.3 Prélever sur une gélose aux trois sucres et au fer, une gélose lysine-fer ou une pente de gélose nutritive, une quantité de culture suffisante pour préparer une suspension dense dans la zone de la culture d'essai (T) et dans celle du témoin négatif (C-). Prélever l'inoculum sur la pente de la gélose inclinée.
- 6.7.1.4 Pour le témoin positif, préparer une suspension dense d'une culture connue de *Salmonella* dans la zone C+.
- 6.7.1.5 Préparer les antisérums somatiques polyvalents en suivant les instructions du fabricant; ajouter une goutte sur chacune des zones T et C+.
- 6.7.1.6 Utiliser une aiguille ou une anse stérile pour mélanger chacune des suspensions de culture, de solution physiologique et d'antisérum dans les zones T et C+, et le mélange de solution physiologique et de culture dans la zone C-. Faire osciller les préparations pendant 1 minute.
- 6.7.1.7 Examiner la lame sur un fond sombre pour déceler la formation d'une agglutination. Les cultures de *Salmonella* s'agglutinent habituellement en moins d'une minute.
- 6.7.1.8 Il arrive parfois que des micro-organismes étroitement apparentés aux *Salmonella* provoquent des réactions faussement positives. On peut dissiper toute confusion en exécutant des analyses supplémentaires avec des antisérums somatiques monovalents et des antisérums flagellaires.
- 6.7.1.9 Les résultats de l'épreuve sérologique à laquelle on a soumis une culture donnée ne sont pas valables s'il y a agglutination (autoagglutination) dans la zone du témoin négatif.

6.7.2 Épreuve avec des antisérums somatiques monovalents

Dans la mesure du possible, il est avantageux d'analyser les cultures qui indiquent la présence présumée de *Salmonella* avec des antisérums somatiques monovalents. De nombreuses *Salmonella* d'origine alimentaire appartiennent aux groupes B, C, D ou E. Il importe néanmoins de savoir que si l'on ne dispose pas d'un ensemble complet d'antisérums monovalents, des *Salmonella* appartenant à des sérogroupes peu communs peuvent passer inaperçues.

NOTE : Il faut envoyer à un centre spécialisé de sérotypage, pour identification, toute culture qui ne forme pas d'agglutination et manifeste les réactions biochimiques caractéristiques des <i>Salmonella</i> .
--

- 6.7.2.1 Délimiter les zones suivantes sur une lame d'agglutination : C- (témoin négatif) et T (culture d'essai).
 - 6.7.2.2 S'il est possible d'obtenir une culture témoin de *Salmonella* pour chaque groupe analysé, préparer le témoin positif (C+) de la manière décrite en 6.7.1.
 - 6.7.2.3 Déposer une goutte de solution physiologique sur chacune des zones T et C+, et deux gouttes sur la zone C-.
 - 6.7.2.4 Prélever sur une gélose aux trois sucres et au fer, une gélose lysine-fer ou une pente de gélose nutritive une quantité de culture suffisante pour préparer une suspension dense dans la zone de la culture d'essai et dans celle du témoin négatif. Prélever l'inoculum sur la pente de la gélose inclinée.
 - 6.7.2.5 Préparer les antisérums somatiques monovalents en suivant les instructions du fabricant et en déposer une goutte sur chacune des zones T et C+.
 - 6.7.2.6 Utiliser une aiguille ou une anse stérile pour mélanger chacune des suspensions de culture, de solution physiologique et d'antisérum dans les zones T et C+, et le mélange de solution physiologique et de culture dans la zone C-. Faire osciller les préparations pendant 1 minute.
 - 6.7.2.7 Examiner la lame sur un fond sombre pour déceler la formation d'une agglutination. Les cultures de *Salmonella* s'agglutinent habituellement en moins d'une minute.
 - 6.7.2.8 S'il ne forme pas d'agglutination dans le mélange de culture, de solution physiologique et d'antisérum, reprendre la procédure avec un autre antisérum monovalent.
 - 6.7.2.9 Si l'épreuve sérologique donne un résultat positif, il faut soumettre la culture à un centre spécialisé de typage de *Salmonella* pour identification complète.
 - 6.7.2.10 S'il y a agglutination (auto-agglutination) dans la zone du témoin négatif, les résultats de l'épreuve sérologique ne sont pas valables pour une culture donnée.
 - 6.7.2.11 Il faut soumettre à un centre spécialisé de typage, pour identification, tout isolat ayant donné des résultats négatifs à l'épreuve sérologique mais dont les réactions biochimiques suggèrent la présence de *Salmonella* (Tableau I).
- 6.7.3 Épreuve avec les antisérums flagellaires (H)**
Lorsqu'il est impossible de recourir aux services d'un centre spécialisé de typage, soumettre à l'épreuve avec l'antisérum H polyvalent les isolats de *Salmonella* qui s'agglutinent en présence d'antisérums somatiques, conformément à la méthode décrite dans *Microorganisms in Food*, Vol. 2 (7.9), pp. 169-170.

7. RÉFÉRENCES

- 7.1 Andrews, W.H. 1989. Methods for recovering injured "classical" enteric pathogenic bacteria (*Salmonella*, *Shigella*, and enteropathogenic *Escherichia coli*) from foods. Chapter 3. Dans B. Ray (ed.) *Injured Index and Pathogenic Bacteria*, CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 55-113.
- 7.2 Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International. 1995. *FDA Bacteriological Analytical Manual*, Eight Edition. AOAC International, Arlington, VA.

- 7.3 D'Aoust, J.-Y. 1977. Effect of storage conditions on the performance of bismuth sulfite agar. *J. Clin. Microbiol.* **5**: 122-124.
- 7.4 D'Aoust, J.-Y., 1981. Update on preenrichment and selective enrichment conditions for detection of *Salmonella* in foods. *J. Food Prot.* **44**:369-374.
- 7.5 D'Aoust, J.-Y. 1984. Effective enrichment-plating conditions for detection of *Salmonella* in foods. *J. Food Prot.* **47**:588-590.
- 7.6 D'Aoust, J.-Y. 1989. *Salmonella*. Chapter 9. **Dans** M.P. Doyle (ed.). *Foodborne Bacterial Pathogens*, Marcel Dekker Inc., New York, NY. pp. 327-445.
- 7.7 D'Aoust, J.-Y., C. Maishment, D.M. Burgener, D.R. Conley, A. Loit, M. Milling et U. Purvis. 1980. Detection of *Salmonella* in refrigerated preenrichment and enrichment broth cultures. *J. Food Prot.* **43**:343-345.
- 7.8 D'Aoust, J.-Y., H.J. Beckers, M. Boothroyd, A. Mates, C.R. McKee, A.B. Moran, P. Sado, G.E. Spain, W.H. Sperber, P. Vassiliadis, D.E. Wagner et C. Wiberg. 1983. ICMSF Methods Studies. XIV. Comparative study on recovery of *Salmonella* from refrigerated preenrichment and enrichment broth cultures. *J. Food Prot.* **46**:391-399.
- 7.9 D'Aoust, J.-Y., A.M. Sewell et D.W. Warburton, 1992. A comparison of standard cultural methods for the detection of foodborne *Salmonella*. *Int. J. Food Microbiol.* **16**:41-50.
- 7.10 D'Aoust, J.-Y., A.M. Sewell et P. Greco. 1993. Detection of *Salmonella* in dry foods using refrigerated preenrichment and enrichment broth cultures: interlaboratory study. *J. of AOAC Int.* **76**:814-821.
- 7.11 D'Aoust, J.-Y., A.M. Sewell et C. McDonald. 1995. Recovery of *Salmonella* spp. from refrigerated preenrichment cultures of dry food composites. *J. AOAC Int.* **78**:1322-1324.
- 7.12 Commission internationale pour la définition des caractéristiques microbiologiques des aliments (CIDCMA). 1978. *Microorganisms in Foods 1. Their significance and methods of enumeration. Second edition.* University of Toronto Press, Toronto (ONT.).
- 7.13 Commission internationale pour la définition des caractéristiques microbiologiques des aliments (CIDCMA). 1986. *Microorganisms in Foods 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. Second edition.* University of Toronto Press, Toronto (ONT.).

8. MILIEUX ET RÉACTIFS

8.1 ANTISÉRUMS, *Salmonella* (vendus dans le commerce)

- a. Antisérums somatiques polyvalents
- b. Antisérums somatiques monovalents

Préparer les antisérums en suivant les instructions du fabricant. Il faut les vérifier périodiquement au moyen de cultures témoins de *Salmonella*.

8.2 GÉLOSE AU SULFITE DE BISMUTH (BS; vendue dans le commerce)

Peptone	10,0 g
Extrait de viande de bœuf	5,0 g
Dextrose	5,0 g

Phosphate disodique	4,0 g
Sulfate ferreux	0,3 g
Indicateur de sulfite de bismuth	8,0 g
Vert brillant	0,025 g
Gélose	20,0 g

Mettre les ingrédients en suspension dans un litre d'eau distillée et bien mélanger. Chauffer uniformément le milieu jusqu'à ébullition à l'aide d'une plaque chauffante plutôt qu'au-dessus d'une flamme nue (ne pas mettre à l'autoclave). Agiter souvent le milieu pendant le chauffage. Refroidir à 45-50 °C et agiter le milieu pour disperser le précipité lourd juste avant de couler la gélose dans les boîtes.

NOTE : La gélose au sulfite de bismuth peut inhiber la croissance des *Salmonella* spp., à moins que les boîtes ne soient réfrigérées à 4-10 °C pendant 24 h avant l'ensemencement. S'il n'y a aucune croissance après 24 h d'incubation, incuber de nouveau les boîtes pendant 24 h de plus. Si l'on utilise du milieu fraîchement préparé, il faut incuber les boîtesensemencées pendant 48 h (7.3).

8.3 GÉLOSE À LA SULFAPYRIDINE ADDITIONNÉE DE VERT BRILLANT (BGS; vendue dans le commerce)

Extrait de levure	3,0 g
Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Lactose	10,0 g
Sucrose	10,0 g
Rouge de phénol	0,08 g
Vert brillant	12,5 mg
Sulfapyridine	1,0 g
Gélose	20,0 g
pH final	6,9 ± 0,2

Mettre les ingrédients en suspension dans un litre d'eau distillée. Faire chauffer jusqu'à ébullition en agitant fréquemment. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes et laisser refroidir à 45-50 °C. Couler la gélose dans les boîtes et laisser sécher en retirant partiellement les couvercles.

8.4 SOLUTION AQUEUSE DE VERT BRILLANT

Vert brillant	0,02 g
Eau stérile	1 L

Dissoudre 1,0 g de vert brillant dans 100 mL d'eau stérile (1 % p/v). Ajouter 2,0 mL de la solution de vert brillant à 1 % à un litre d'eau stérile (concentration finale de 0,002 % p/v).

8.5 EAU PEPTONÉE TAMPONNÉE (EPT; vendue dans le commerce)

Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate disodique	3,5 g
Phosphate acide de potassium	1,5 g
pH final	7,2 ± 0,2

Dissoudre 20,0 g dans 1 litre d'eau distillée. Verser dans des contenants de verre appropriés et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

8.6 GÉLOSE LYSINE-FER (LIA; vendue dans le commerce)

Peptone	5,0 g
Extrait de levure	3,0 g

Dextrose	1,0 g
L-lysine	10,0 g
Citrate de fer ammoniacal	0,5 g
Thiosulfate de sodium	0,04 g
Pourpre de bromocrésol	0,02 g
Gélose	15,0 g
pH final	6,7 ± 0,2

Mettre les ingrédients en suspension dans un litre d'eau distillée et faire chauffer jusqu'à ébullition en agitant fréquemment. Répartir le volume approprié de gélose dans les tubes et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir en position inclinée pour former des culots profonds.

8.7 GÉLOSE DE MACCONKEY (vendue dans le commerce)

Peptone	17,0 g
Protéose peptone	3,0 g
Lactose	10,0 g
Mélange de sels biliaries	1,5 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Rouge neutre	0,03 g
Violet de gentiane	0,001 g
Gélose	13,5 g
pH final	7,1 ± 0,2

Mettre les ingrédients en suspension dans un litre d'eau distillée et chauffer jusqu'à ébullition en agitant fréquemment. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes et refroidir à 45-50 °C. Couler la gélose dans les boîtes et laisser sécher en retirant partiellement les couvercles.

8.8 GÉLOSE NUTRITIVE (vendue dans le commerce)

Peptone	5,0 g
Extrait de viande de bœuf	3,0 g
Gélose	15,0 g
pH final	6,8 ± 0,2

Mettre les ingrédients en suspension dans un litre d'eau distillée et chauffer jusqu'à ébullition en agitant fréquemment. Verser la gélose dans des tubes et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir les tubes en position inclinée.

8.9 BOUILLON NUTRITIF (vendu dans le commerce)

Peptone	5,0 g
Extrait de viande de bœuf	3,0 g
pH final	6,8 ± 0,2

Dissoudre les ingrédients dans un litre d'eau distillée. Répartir dans des contenants de verre appropriés et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

8.10 SOLUTION PHYSIOLOGIQUE

Chlorure de sodium	8,5 g
--------------------	-------

Dissoudre l'ingrédient dans un litre d'eau distillée. Répartir dans des contenants de verre appropriés et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

8.11 BOUILLON AU SÉLÉNITE ADDITIONNÉ DE CYSTINE (SC; vendu dans le commerce)

Tryptone/peptone	5,0 g
Lactose	4,0 g
Phosphate disodique	10,0 g
Sélénite mono-acide de sodium	4,0 g
L-cystine	0,01 g
pH final	7,0 ± 0,2

Mettre les ingrédients en suspension dans un litre d'eau distillée et faire chauffer pendant 10 minutes dans la vapeur libre ou jusqu'à ébullition, sur une plaque chauffante. Agiter fréquemment. Ne pas stériliser à l'autoclave. Faire refroidir à 45-50 °C et répartir le milieu dans des contenants de verre appropriés. Utiliser le milieu le jour de la préparation.

NOTE : Les sels de sélénium peuvent être tératogènes et il faut les peser sous une hotte.

8.12 MILIEU AU LAIT ÉCRÉMÉ

Poudre de lait écrémé	100,0 g
Vert brillant	0,02 g

Dissoudre la poudre de lait écrémé dans un litre d'eau distillée et ajouter 20 mL de la solution aqueuse de vert brillant à 0,1 % (p/v) (concentration finale de 0,002 % p/v). Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

8.13 BOUILLON AU TÉTRATHIONATE ADDITIONNÉ DE VERT BRILLANT (TBG)

a. **Milieu de base** (vendu dans le commerce)

Peptone/protéose peptone	5,0 g
Sels biliaires	1,0 g
Carbonate de calcium	10,0 g
Thiosulfate de sodium	30,0 g
pH final	8,4 ± 0,2

Mettre les ingrédients du milieu de base en suspension dans un litre d'eau distillée et faire chauffer jusqu'à ébullition. Laisser refroidir à 45-50 °C.

b. **Solution aqueuse de vert brillant (1 % p/v)**

Dissoudre 1,0 g de vert brillant dans 100 mL d'eau distillée.

c. **Solution d'iode**

Iodure de potassium	25,0 g
Iode	30,0 g
Eau distillée	100,0 mL

Mettre les ingrédients en suspension dans 100 mL d'eau distillée. Ne pas chauffer. Il faut préparer la solution d'iode longtemps d'avance parce que l'iode se dissout très lentement

Pour préparer le milieu complet le jour où il doit être utilisé, ajouter, dans des conditions d'asepsie, 1,0 mL de la solution aqueuse de vert brillant à 1 % et 20 mL de la solution d'iode à un litre de milieu de base. Ne pas faire chauffer le milieu après avoir ajouté l'iode.

8.14 GÉLOSE AUX TROIS SUCRES ET AU FER (TSI; vendue dans le commerce)

Extrait de viande de bœuf	3,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Peptone	15,0 g
Protéose peptone	5,0 g
Lactose	10,0 g
Sucrose	10,0 g
Dextrose	1,0 g
Sulfate ferreux	0,2 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Thiosulfate de sodium	0,3 g
Gélose	12,0 g
Rouge de phénol	0,024 g
pH final	7,4 ± 0,2

Mettre les ingrédients en suspension dans un litre d'eau distillée et faire chauffer jusqu'à ébullition en agitant de temps en temps. Répartir le volume approprié de gélose dans les tubes et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir les tubes en position inclinée pour former des culots profonds.

8.15 BOUILLON TRYPTICASE-SOJA (PEPTONE TRYPSIQUE, TRYPTONE) (vendu dans le commerce)

Tryptone	17,0 g
Peptone de soja	3,0 g
Dextrose	2,5 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate dipotassique	2,5 g
pH final	7,3 ± 0,2

Dissoudre les ingrédients dans un litre d'eau distillée. Répartir dans des contenants de verre appropriés et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

8.16 GÉLOSE À L'URÉE DE CHRISTENSEN**a. Base de gélose** (vendue dans le commerce)

Peptone	1,0 g
Dextrose	1,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate acide de potassium	2,0 g
Rouge de phénol	0,012 g
Gélose	15,0 g
pH final	6,8 ± 0,2

Dissoudre les ingrédients du milieu de base dans 900 mL d'eau distillée. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes et laisser refroidir à 45-50 °C.

b. Solution d'urée

Dissoudre 20 g d'urée dans 100 mL d'eau distillée et stériliser par filtration.

Pour préparer le milieu complet, ajouter 100 mL de la solution d'urée à 900 mL de la base de gélose durcie. Répartir des volumes appropriés du milieu complet dans des tubes pour obtenir des culots profonds après refroidissement en position inclinée.

TABLEAU I. Rigueur des plans d'échantillonnage de la CIDCMA pour le dépistage de *Salmonella* dans les aliments^a

CIDCMA		BAM ^e			
Risque lié à la consommation ^a	Nombre de cas ^b	Nombre d'unités d'échantillonnage (n)		Catégorie de risque	Unités d'échantillonnage (n)
		Analyse régulière ^c	Analyse à des fins d'enquête ^{c,d}		
Réduit	10	5	15	III	15
Inchangé	11	10	30	II	30
Accru	12	20	60	I	60

- a Indique le degré de risque lié aux conditions dans lesquelles on prévoit que le produit alimentaire sera manipulé et consommé après l'échantillonnage. Voir 7.13, tableaux 6 (p. 43) et 7 (p. 48).
- b Les nombres de cas sont des terminologies de la CIDCMA qui ont trait au degré de préoccupation suscitée par les aliments et les ingrédients alimentaires qui peuvent contenir des *Salmonella* spp. et qui peuvent être impliqués dans des poussées de salmonellose chez les êtres humains. La rigueur de l'échantillonnage des aliments augmente avec le nombre de cas conformément au mode d'échantillonnage pour « analyse régulière » et « analyse à des fins d'enquête ».
- c Voir 7.13, Tableau 10 (p. 74) et le Tableau 11 (p. 77). Ce sont tous des plans d'échantillonnage à 2 catégories (C=0).
- d S'applique aux aliments distribués aux consommateurs sensibles (7.13, Tableau 8, p. 55) ou analysés à des fins d'enquête (Tableau 11, p. 77). Ce sont tous des plans d'échantillonnage à 2 catégories (C=0).
- e FDA Bacteriological Analytical Manual (1992), chapitre 1, pp. 1-9.

TABLEAU II. Circonstances régissant l'échantillonnage des aliments pour analyse « régulière » ou « à des fins d'enquête »^a

	Échantillonnage régulier	Échantillonnage à des fins d'enquête ^b
A	L'ALIMENT	
	Tests antérieurs jugés satisfaisants.	Tests antérieurs souvent jugés insatisfaisants.
	Les tests n'indiquent pas qu'il y a eu contamination grave.	Les tests réguliers ont révélé une contamination grave.
	N'est pas une cause courante d'intoxication alimentaire.	Type d'aliment qui cause souvent des flambées de maladie.
	N'est pas particulièrement soupçonné en cas de flambée.	Des aliments provenant du même fabricant sont actuellement mis en cause dans une flambée de maladie. Aliments d'un type reconnu comme producteur de sérotypes qui sont de nouveaux agents pathogènes. Les circonstances donnent à penser que l'aliment a peut-être joué un rôle dans une flambée.
	Aliment qui n'est pas destiné particulièrement à une population sensible.	Aliment suspect et destiné à une population sensible. Nouveau type d'aliment ou nouvelle formule qui peut présenter un risque. Les résultats d'analyses effectuées par des laboratoires différents ne concordent pas.
B	LE FABRICANT	
	Les dossiers sont satisfaisants. Les mesures d'hygiène sont habituellement adéquates.	Dossiers inexistants. On sait ou suppose que le fabricant n'assure pas une surveillance satisfaisante de l'établissement. L'importateur sait qu'il existe certaines conditions dangereuses temporaires à l'établissement.
C	LE PAYS D'ORIGINE	
	Surveillance avec compétence les opérations industrielles. N'est pas un endroit où les intoxications alimentaires concernées sont endémiques ou causes d'une épidémie.	Situations endémiques ou épidémiques dangereuses. Taux élevé de porteurs. Pollution des égouts habituellement grave. Systèmes primitifs de surveillance des aliments.

a Tiré de « Microorganisms in Foods » Vol. 2. (ICMSF, 1986) Tableau 11, p. 77.

b À évaluer en fonction de tous les renseignements disponibles. L'existence d'un seul facteur ne justifierait pas nécessairement un échantillonnage à des fins d'enquête.

TABLEAU III. Protocole d'enrichissement en milieu non sélectif (pré-enrichissement)

Type de produit	Degré de risque ^a (nombre d'unités d'échantillonnage)	Unité d'échantillonnage ^c	Préparation de l'unité d'analyse
Pâtes alimentaires			
p. ex., spaghetti, nouilles.			
a. Prêtes à consommer	Inchangé (10)	100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT et mélanger. On peut également mélanger le produit sec à vitesse réduite pour obtenir du matériel en fines particules pour l'analyse.
b. À faire cuire	Réduit (5)	100 g	
Noix de coco	Inchangé (10)	100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT et mélanger.
Confiseries			
a. Chocolat et cacao ^b	Inchangé (10)	100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de milieu au lait écrémé et mélanger. Voir la méthode officielle (MFO-11).
b. Bonbons	Inchangé (10)	100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de milieu au lait écrémé et mélanger.
Produits laitiers			
a. Fromage	Inchangé (10)	100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT et mélanger.
b. Lait de consommation	Accru (20)	100 mL	Ajouter 25 mL à 225 mL de solution aqueuse de vert brillant.

Type de produit	Degré de risque ^a (nombre d'unités d'échantillonnage)	Unité d'échantillonnage ^c	Préparation de l'unité d'analyse
c. Crème glacée	Inchangé (10)	100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de solution aqueuse de vert brillant.
d. Produits en poudre p. ex., petit lait, babeurre	Accru (20)	100 g	Ajouter lentement 25 g à 225 mL de solution aqueuse de vert brillant stérile et laisser la poudre s'imbiber. Ne pas mélanger.
e. Lait écrémé en poudre ^b	Accru (20)	100 g	Ajouter lentement 25 g à 225 mL de solution aqueuse de vert brillant stérile et laisser la poudre s'imbiber. Ne pas mélanger. Voir la méthode officielle (MFO-12).
Ovoproduits liquides^b	Inchangé (10)	100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT et mélanger. Voir la méthode officielle (MFO-6).
Cuisses de grenouille^b	Réduit (5)	≥ 25 g	Déposer 25 g dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT. Voir la méthode officielle (MFO-10).
Viandes			
a. Crues	Réduit (5)	format de ≥ 100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT et mélanger.
b. Cuites	Inchangé (10)	format de ≥ 100 g	Mettre en suspension 25 g dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT et mélanger.

Type de produit	Degré de risque ^a (nombre d'unités d'échantillonnage)	Unité d'échantillonnage ^c	Préparation de l'unité d'analyse
Volaille			
a. Crue	Réduit (5)	i) Volaille entière	Placer la volaille décongelée ou fraîche, les égouttures et les abats (le cas échéant) dans un sac de plastique stérile résistant. Ajouter 1,0 litre de bouillon nutritif ou d'EPT et agiter vigoureusement pour faire en sorte que toutes les surfaces de l'échantillon viennent en contact avec le bouillon.
		ii) En morceaux : format de ≥ 100 g	Suivre la méthode décrite ci-dessus pour la volaille entière.
		iii) Abats : format de ≥ 100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT et mélanger.
b. Cuite	Inchangé (10)	100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT et mélanger.
Aliments préparés			
p. ex., pâtés à la viande, repas préparés	Inchangé (10)	format de ≥ 100 g	Combiner 25 g de chaque aliment composant le mets (le cas échéant) en une seule unité d'analyse; ajouter 9 volumes de bouillon nutritif ou d'EPT et mélanger.

Type de produit	Degré de risque ^a (nombre d'unités d'échantillonnage)	Unité d'échantillonnage ^c	Préparation de l'unité d'analyse
Épices et assaisonnements			
a. À faire cuire	Réduit (5)	format de ≥ 100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT et bien mélanger. Le rapport épice/milieu devrait être de 1:10 (p/v). Cependant, il faut prévoir un rapport plus élevé dans le cas des épices bactéricides et de celles qui absorbent une importante partie du bouillon (Tableau V). Dans le cas des oignons et de l'ail, utiliser du bouillon trypticase-soja (peptone trypsique) contenant du K ₂ SO ₃ à 0,5 % (p/v).
b. Prêts à consommer	Inchangé (10)	format de ≥ 100 g	
Levure	Inchangé (10)	format de ≥ 100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT.
Autres aliments			
a. Crus	Réduit (5)	format de ≥ 100 g	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT; amalgamer ou mélanger selon le cas.
b. Prêts à consommer	Inchangé (10)	format de ≥ 100 g ^c	Mettre 25 g en suspension dans 225 mL de bouillon nutritif ou d'EPT; amalgamer ou mélanger selon le cas.

- a) Consulter le Tableau I au sujet de la rigueur de l'échantillonnage et du degré de risque associé à la consommation.
 b) Méthode officielle disponible.
 c) Lorsque le format de consommation est inférieur à 100 g, l'unité d'échantillonnage se composera de plus d'un emballage.
 d) Condiments ajoutés aux aliments préparés avant la consommation : p. ex. : poivre (noir, blanc, de Cayenne, au citron), paprika, piment rouge, persil, cannelle, etc.

TABLEAU IV. Épreuves biochimiques déterminantes

Milieu	Réaction	Observation	Réaction typique de <i>Salmonella</i>
Gélose aux trois sucres et au fer (TSI)	Utilisation du lactose ou du sucrose	Réaction positive : Pente jaune Réaction négative : La couleur de la pente ne change pas.	Négative (certaines souches peuvent utiliser un substrat ou les deux).
	Utilisation du dextrose	Réaction positive : Culot jaune avec ou sans poches de gaz Réaction négative : La couleur du culot ne change pas.	Positive
	Production de H ₂ S	Réaction positive : Noircissement du culot ou de la pente Réaction négative : Aucun noircissement	Positive (possibilité de dégagement lent de H ₂ S. La réaction peut être inhibée en présence de souches lactose-positives ou sucrose-positives.)
	Formation de gaz	Réaction positive : Poches de gaz dans le milieu Réaction négative : Absence de poches de gaz	Positive
Gélose lysine-fer (LIA)	Production de H ₂ S	Réaction positive : Noircissement du culot ou de la pente Réaction négative : Aucun noircissement	Positive
	Lysine-décarboxylase	Réaction positive : Le culot demeure pourpre. Réaction négative : Le culot vire au jaune.	Positive

Milieu	Réaction	Observation	Réaction typique de <i>Salmonella</i>
	Lysine-désaminase	Réaction positive : La pente vire au rouge vin. Réaction négative : La couleur de la pente ne change pas.	Négative
Gélose à l'urée de Christensen	Production d'uréase	Réaction positive : La pente vire au rose/rouge Réaction négative : La couleur de la pente ne change pas.	Négative

TABLEAU V. Rapport recommandé entre les épices et les assaisonnements et le bouillon de pré-enrichissement (p/v)

Aneth, graines	1:10	Macis, poudre	1:10
Anis vert	1:10	Marjolaine	1:10
Arrow-root, poudre	1:10	Menthe, flocons	1:20
Assaisonnement à l'italienne	1:20	Menthe, poudre	1:10
Assaisonnement (suprême) pour salade	1:10	Moutarde, graines	1:10
		Muscade (noix entières)	1:10
Basilic, feuilles	1:20	Oignon, poudre	1:10
		Orange, morceaux	1:10
Cannelier, fleurs	1:20	Origan, feuilles	1:50
Cannelle, bâtons	1:10 et 1:100		
Cardamome, graines	1:10	Paprika	1:10
Cari, poudre	1:10	Pavot, graines	1:10
Carvi, graines	1:10	Persil, flocons	1:20
Casse, bourgeons		Piment de la Jamaïque	1:10 et 1:100
Casse, poudre	1:50	Piment de la Jamaïque, poudre	1:20 et 1:100
Céleri, flocons	1:20	Piment du Chili, entier	1:10
Céleri, graines	1:10	Poivre au citron	1:50
Cerfeuil, feuilles	1:20	Poivre blanc	1:10
Champignons, tranches	1:20	Poivre de Cayenne	1:10
Ciboulette hachée	1:20	Poivre, grains	1:10
Clou de girofle	1:50 et 1:1000	Poivre noir	1:10
Coriandre, graines	1:10		
Crème de tartre	1:10	Romarin, feuilles	1:10
Cumin, graines	1:10		
Curcuma, poudre	1:10	Safran	1:20
		Sarriette moulue	1:50
Estragon	1:20	Sauge, feuilles	1:20
Épices pour tarte à la citrouille	1:50	Sésame, graines	1:10
Fenouil, graines	1;10	Thym, poudre	1:50
Fines herbes pour salade	1:10		
		Zeste de citron	1:10
Gingembre, racine	1:10		
Laurier, feuilles	1:20		
Légumes, flocons	1:20		