

	<b>ÉCHANTILLONNAGE ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS FROTTIS</b>	Date entrée en vigueur : 30 janvier 2019	Modifié le : N/A
		Approuvé par : 	
		<b>IT-03-18.01</b>	Page 1 de 6

## 1. OBJET

Le présent document décrit la procédure à suivre pour effectuer le prélèvement et le transport d'échantillons environnementaux (frottis) destinés à des analyses microbiologiques.

## 2. INTRODUCTION

L'échantillonnage est une étape très importante dans le processus analytique puisqu'elle influence systématiquement la représentativité d'un résultat et son interprétation mais elle peut aussi affecter l'intégrité d'un résultat. Toutes les mesures doivent être prises afin d'éviter qu'un échantillon soit contaminer lors de son prélèvement et les conditions d'entreposage et de transport doivent aussi être contrôlé afin de ne pas induire de modification de la charge bactérienne de l'échantillon, c'est-à-dire de ne pas provoquer une prolifération des bactéries ou au contraire leur élimination.

Le nombre d'échantillons et les analyses à faire doivent être déterminés par le client à travers un plan d'échantillonnage élaboré pour répondre aux besoins de son entreprise. L'Agence Canadienne des Aliments et Santé Canada on mit à la disposition des entreprises, sur leur site internet respectif, des documents de références en lien avec les plans d'échantillonnage pour le secteur de transformation de produits alimentaires.

L'objectif premier de l'échantillonnage environnemental est de vérifier l'efficacité de la procédure de lavage en place et de détecter la présence d'organismes pathogènes. Ultiment, un bon plan d'échantillonnage permettra de prévenir les problèmes et d'intervenir rapidement et façon efficace si une situation non-conforme survient.

Dans le cadre du contrôle de la qualité de l'environnement, deux types d'analyses sont disponibles soit les analyses **qualitatives** et les analyses **quantitative**. Dans le premier cas, on cherche à déterminer s'il y a **présence** d'un micro-organisme et dans l'autre on chercher à déterminer le **nombre**.

## 3. DOCUMENTS ASSOCIÉS À COMPLÉTER

- Ouverture de dossier et entente de service (F-01-02)
- Entente de services / exigences du laboratoire (F-03-04)
- Formulaire de demande d'analyses microbiologiques - Frottis (F-03-13 ou F-03-22)

## 4. MATÉRIEL

Les échantillons environnementaux sont habituellement réalisés à l'aide de matériel spécialisé que le laboratoire fournit.

L'**éponge** stérile est fréquemment utilisée, notamment pour les analyses **qualitatives**. Elle est particulièrement pratique pour les grandes surfaces ou les sites d'échantillonnage multiples.

Des **écouvillons** format « Tip swab » sont aussi disponibles et offre l'avantage de permettent l'accès à des endroits qui sont difficiles à atteindre avec une éponge. Ce type d'écouvillons est intéressant pour les analyses **quantitatives** lors de l'échantillonnage de surfaces de 25cm<sup>2</sup> et moins puisqu'il permet une plus grande précision dans les résultats que les éponges.

Le matériel d'échantillonnage (éponge ou écouvillon) est stérile et placé dans un contenant fermé hermétiquement. Un bouillon neutralisant adapté à des analyses spécifiques, est généralement présent avec l'écouvillon. Il est important de connaître les analyses désirées afin de sélectionner le bon matériel.

D'autres alternatives sont envisageables pour des besoins particuliers comme pour les analyses de l'air ambiant par exemple. Contactez l'équipe du laboratoire si vous souhaitez en

savoir plus à ce sujet ou si vous souhaitez un type d'écouvillons qui n'est pas présenté dans le présent document.

## 5. ANALYSE QUALITATIVE

L'analyse qualitative la plus commune pour les échantillons environnementaux est celle de détection de *Listéria* spp. et *monocytogenes* (présence/absence).

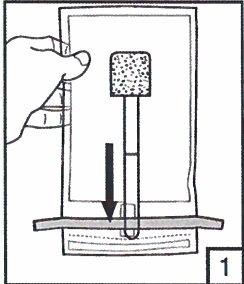
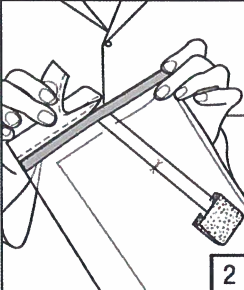
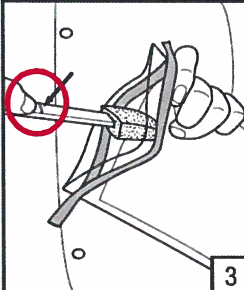
### 5.1.1. Surface échantillonnée

Dans ce cas, la définition de la superficie de la surface échantillonnée n'est pas obligatoire et une éponge peut être utilisée pour plusieurs endroits. Toutefois, il est important de bien identifier ces endroits afin d'être en mesure de poser des actions ciblées en cas de résultats positifs. De plus, il est préférable d'utiliser des éponges différentes pour les surfaces en contact avec les aliments (SCA) et les surfaces qui ne le sont pas (SNCA).

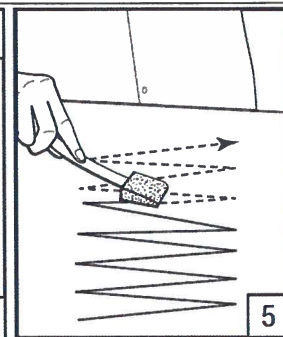
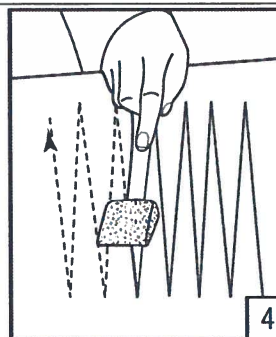
### 5.1.2. Préparation

Avant de manipuler le matériel d'échantillonnage, lavez vos mains et portez des gants propres.

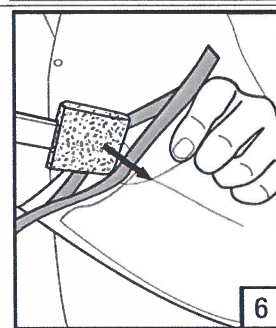
### 5.1.3. Méthode de prélèvement

<ul style="list-style-type: none"> <li>Identifiez le sac de l'éponge (nom de l'entreprise, date et heure d'échantillonnage, lieu de prélèvement);</li> </ul>	 <p>1</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Glissez le manche de l'éponge vers l'ouverture du sac;</li> </ul>	 <p>2</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Retourner le sac pour que le liquide se déplace vers le fond et presser l'éponge pour extraire le surplus de liquide. Ouvrez le sac en déchirant la bandelette;</li> <li><u>Ne pas éliminer le liquide présent dans le sac</u></li> </ul>	 <p>3</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Prélevez l'échantillon (frottez la surface définie) avec l'éponge :</li> </ul>	

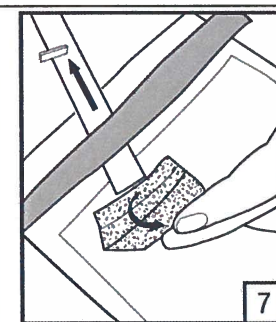
- Effectuer un premier prélèvement (4) et reprendre le prélèvement de la surface, dans l'autre sens, avec l'autre côté de l'éponge (5);



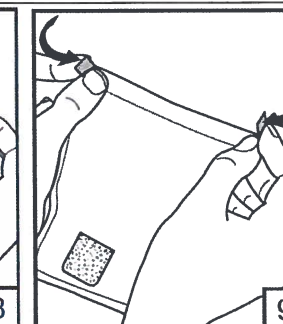
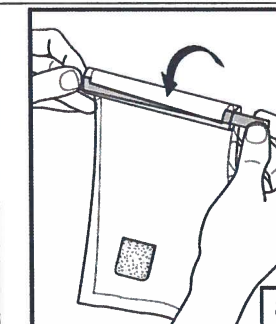
- Remettre l'éponge dans le sac;



- Maintenir l'éponge en place à l'intérieur du sac. Pliez le manche jusqu'à ce qu'il casse. Laissez tomber l'éponge dans le sac. Jetez le manche.



- Refermez le sac en repliant le rebord 3 fois sur lui-même (8) et repliez les extrémités de la bande bleue sur elle-même de chaque côté du sac (9).



**ATTENTION** de ne pas attacher les extrémités ensemble et de ne pas oublier de retirer le manche.

Fermé ainsi, le liquide peut s'écouler car le sac n'est pas fermé hermétiquement et les inscriptions sont difficiles à lire.



## 6. Analyses **Quantitatives** (dénombrement d'organismes)

L'analyse de dénombrement la plus courante dans le cadre du contrôle de l'environnement pour les usines de transformation de produits alimentaires est le dénombrement des bactéries aérobies (compte total). Il est toutefois possible de faire le dénombrement des staphylocoques, des entérobactéries et des coliformes (totaux et *E. coli*).

### 6.1.1. Préparation

Avant de manipuler le matériel d'échantillonnage, lavez vos mains et portez des gants propres.

### 6.1.2. Surface échantillonnée

Pour ce type d'analyse, il est important de définir la superficie que vous échantillonnez car le résultat est rapporté sur cette superficie (UFC/cm<sup>2</sup>). Il est commun d'échantillonner un carré de 5 cm par 5 cm, pour obtenir un résultat exprimé en #UFC/25 cm<sup>2</sup>.

### 6.1.3. Méthode de prélèvement

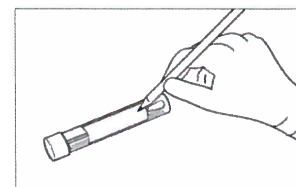
#### a. Éponge

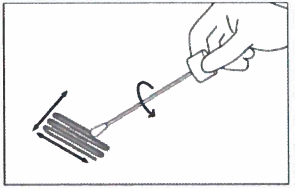
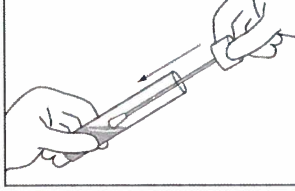
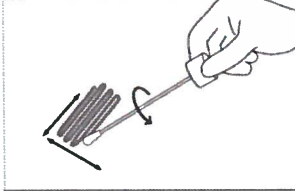
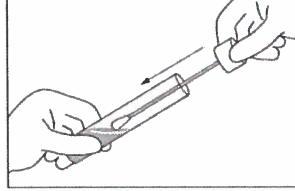
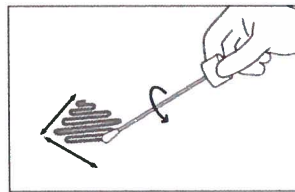
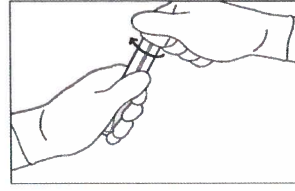
Pour ce type de matériel, veuillez vous référer à la section 5.1.3 en portant une attention particulière à :

- Couvrir toute la superficie prédéterminée en effectuant, une première fois des mouvements de haut en bas et une seconde fois des mouvements de gauche à droite.
- Utiliser les 2 côtés de l'éponge pour faire les prélèvements.

#### b. Écouvillon Tip-Swab

- Identifiez le tube (nom de l'entreprise, date et heure d'échantillonnage, lieu de prélèvement).



<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ouvrir le bouchon, sortir le Tip et frottez la surface choisie dans le sens « de haut en bas »</li> <li>• Respectez la superficie prédéterminée (ex : 5cm X 5cm);</li> <li>• Assurez-vous de couvrir <b>toute</b> la surface de façon uniforme et en effectuant une rotation du Tip en même temps.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Remettre le Tip dans le tube, agitez, avant de reprendre le prélèvement.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frottez à nouveau la même surface mais dans le sens « de gauche à droite »</li> <li>• Respectez la superficie prédéterminée (ex : 5cm X 5cm);</li> <li>• Assurez-vous de couvrir <b>toute</b> la surface de façon uniforme et en effectuant une rotation du Tip en même temps.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Remettre le Tip dans le tube, agitez, avant de reprendre le prélèvement.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frottez une dernière fois la même surface mais diagonalement;</li> <li>• Respectez la superficie prédéterminée (ex : 5cm X 5cm);</li> <li>• Assurez-vous de couvrir <b>toute</b> la surface de façon uniforme et en effectuant une rotation du Tip en même temps.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Remettre le Tip dans le tube et fermé le bouchon hermétiquement.</li> </ul>	

## 7. ENTREPOSAGE ET CONSERVATION DE L'ÉCHANTILLON

Aussitôt prélevé, entreposez l'échantillon au frais, sans toutefois qu'il ne congèle, et de façon à assurer son intégrité (éviter que les sacs ne se brisent ou que le liquide ne s'écoule).

## 8. TRANSPORT

Utilisez une glacière pour le transport des échantillons. La glacière doit être propre et en bon état. Pour maintenir une température fraîche, utilisez des blocs réfrigérants (Ice pack).

Finalement, les sacs doivent être convenablement disposés de façon à préserver leur intégrité et éviter qu'ils ne se brisent ou que le liquide ne s'écoule pendant le transport.

La planification du transport des échantillons vers le laboratoire doit favoriser un délai le plus court possible. **L'analyse doit se faire dans les 24 heures suivant l'échantillonnage.** Informez le laboratoire de l'envoi des échantillons au moins 24 heures à l'avance afin que le laboratoire s'assure de la disponibilité du matériel et des ressources.

Les échantillons doivent être accompagnés d'un formulaire de demande d'analyses microbiologiques - Frottis (F-03-22 ou F-03-13) dûment complété.

## 9. RÉFÉRENCES

- Santé Canada. Échantillonnage environnemental pour la détection des microorganismes (MFLP-41) – Juillet 2010, Compendium de méthodes, volumes 3.
- ACIA, Orientation opérationnelle : Principes généraux d'échantillonnage - Produits alimentaires, environnement, eau et glace :  
[http://inspection.gc.ca/aliments/continuum-de-la-conformite/documents-d-orientation-pour-les-inspecteurs/pis/principes-generaux-d-echantillonnage/fra/1540234969218/1540235089869#a6\\_4](http://inspection.gc.ca/aliments/continuum-de-la-conformite/documents-d-orientation-pour-les-inspecteurs/pis/principes-generaux-d-echantillonnage/fra/1540234969218/1540235089869#a6_4)
- Instruction d'utilisation Éponge- Stick-Sponge, 3m