

**Programme d'accréditation
des laboratoires d'analyse**

**LIGNES DIRECTRICES CONCERNANT
LES TRAVAUX ANALYTIQUES
EN MICROBIOLOGIE**

DR-12-SCA-02

Édition : 5 octobre 2009

**Centre d'expertise
en analyse
environnementale**

Québec 

Pour toute information complémentaire sur les activités du **Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec** ou pour vous procurer nos documents, veuillez consulter notre site Internet à l'adresse suivante :

www.ceaeq.gouv.qc.ca

ou communiquer avec nous :

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec

Complexe scientifique
2700, rue Einstein, bureau E-2-220
Québec (Québec) G1P 3W8

Téléphone : 418 643-1301
Télécopieur : 418 528-1091
Courriel : ceaeq@mddep.gouv.qc.ca

Référence bibliographique

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Lignes directrices concernant les travaux analytiques en microbiologie*, DR-12-SCA-02, Québec, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Édition courante.

Dépôt légal – Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2009

ISBN 978-2-550-57262-6 (PDF)

ISBN 978-2-550-56173-6 (PDF), Édition 9 juin 2009

ISBN 2-550-39059-8, Édition : 1^{er} avril 2002 (publié précédemment par ENVIRODOQ : ENV/2002/0089)

© Gouvernement du Québec, 2009

AVANT-PROPOS

Le présent document s'adresse à tous les laboratoires de microbiologie accrédités par le ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec. Il précise les lignes directrices concernant les laboratoires de microbiologie. Ces lignes directrices sont passées en revue lors de l'évaluation sur site des procédures d'assurance et de contrôle de la qualité effectué à l'intérieur Programme d'accréditation des laboratoires d'analyse (PALA).

Tous les éléments dont il est question dans ce document sont vérifiés au cours de l'évaluation sur site et ils font l'objet d'un rapport d'évaluation. Le laboratoire doit, par la suite, soumettre un rapport de correction des éléments non conformes établis lors de l'évaluation et démontrer l'application effective de son programme d'assurance et de contrôle de la qualité. Des éléments supplémentaires touchant les bonnes pratiques de laboratoire peuvent faire l'objet de non-conformité lors des évaluations. Le suivi apporté à ces éléments doit être le même que celui prévu aux non-conformités soulevées par rapport aux exigences du présent document.

La correspondance entre les sections présentées dans ce document et celles apparaissant au chapitre III du document intitulé *Programme d'accréditation des laboratoires d'analyse*¹ est indiquée entre parenthèses au début de chacune des sections.

¹ Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, *Programme d'accréditation des laboratoires d'analyse : normes et exigences*, DR-12-PALA, Québec, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2009, Édition courante.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	3
1 LOCAUX ET ENVIRONNEMENT (section 5.3)	7
1.1 Aménagement.....	7
1.2 Propreté.....	7
1.3 Conditions ambiantes	7
1.4 Qualité de l'environnement.....	8
2 MATÉRIEL ET RÉACTIFS (sections 4.6 et 5.9)	8
2.1 Membranes filtrantes	8
2.2 Verrerie et autres éléments.....	8
2.3 Milieux de culture et réactifs.....	9
2.4 Eau de rinçage ou de dilution (tampon phosphate, eau peptonée ou eau déminéralisée stérile)	10
2.5 Eau déminéralisée ou distillée.....	10
2.6 Conteneurs de prélèvement	11
2.7 Souches de contrôle	12
2.8 Réactifs de confirmation et d'identification	13
3 ÉQUIPEMENTS (sections 5.5 et 5.6)	13
3.1 Système d'inventaire des équipements.....	13
3.2 Autoclave	14
3.3 Incubateurs et bains-marie	14
3.4 Réfrigérateurs	15
3.5 Thermomètres.....	15
3.6 Équipements de filtration.....	16
3.7 Stérilisateurs UV pour désinfection des équipements de filtration.....	16
3.8 pH-mètre	16
3.9 Balances	17
3.10 Micropipettes.....	17
3.11 Appareil UV servant à l'observation de la fluorescence pour l'obtention d'un résultat analytique	17
4 MÉTHODES D'ANALYSE (sections 5.4 et 5.9)	17
4.1 Calendrier des contrôles de la qualité.....	17
4.2 Contrôle de la stérilité.....	18
4.3 Confirmation des résultats	18
4.4 Validation, vérification et suivi de la performance des méthodes utilisées	19
4.5 Conformité réglementaire	25
5 TRAÇABILITÉ DE L'INFORMATION (sections 5.8 et 5.10)	25
5.1 Échantillonnage et conservation des échantillons.....	26
5.2 Demande d'analyse et enregistrement des échantillons au laboratoire.....	27
5.3 Feuille de travail	27
5.4 Registre de confirmation.....	28
5.5 Rapport d'analyse.....	28
5.6 Transcription et suivi des données pour les échantillons	28
BIBLIOGRAPHIE	31

ANNEXE I33
ANNEXE II.....35

1 LOCAUX ET ENVIRONNEMENT (section 5.3)

1.1 Aménagement

L'aménagement du laboratoire de même que la disposition du matériel et des différents appareils doivent être adéquats pour faciliter le travail des analystes. Les activités de chimie, microbiologie et toxicologie doivent être effectuées dans des locaux séparés. De plus, une séparation efficace doit être aménagée entre les zones avoisinantes lorsque des activités incompatibles s'y déroulent.

Les locaux doivent contenir les espaces suivants :

- espace de réception des échantillons;
- espace d'entreposage;
- salle de lavage et de stérilisation;
- espace de préparation des milieux de culture;
- espace de travail pour l'analyse.

1.2 Propreté

La propreté de l'équipement des tables de travail et du laboratoire constitue une condition essentielle à un travail de qualité en microbiologie. Le responsable du laboratoire doit s'assurer que des mesures sont prises pour maintenir la propreté requise à la bonne marche des divers travaux de microbiologie. L'entretien des planchers du laboratoire de microbiologie doit s'effectuer à l'aide d'une vadrouille humide et d'une solution désinfectante. De plus, le désinfectant utilisé pour nettoyer les surfaces de travail doit être d'une efficacité suffisante pour détruire un large spectre de micro-organismes. Les désinfectants utilisés pour le nettoyage des planchers et des surfaces de travail doivent être changés périodiquement.

1.2.1 Calendrier d'entretien

Le laboratoire doit disposer d'un calendrier d'entretien des locaux et des tables de travail. Le nom du désinfectant utilisé pour le nettoyage des surfaces de travail et du plancher doit être indiqué sur ce calendrier.

1.3 Conditions ambiantes

Des conditions de température particulières sont nécessaires pour assurer le bon fonctionnement de certains équipements, comme les incubateurs et les bains-marie. La température ambiante doit se situer entre 16 °C et 27 °C.

1.3.1 Température ambiante

Enregistrer la température du laboratoire principal une fois par jour, lorsque des travaux analytiques sont réalisés.

1.4 Qualité de l'environnement

Le maintien d'une bonne qualité bactériologique de l'air et des surfaces de travail est nécessaire pour le déroulement normal des travaux de laboratoire.

1.4.1 Air ambiant

D'avril à octobre, vérifier mensuellement la qualité bactériologique de l'air ambiant; pour le reste de l'année, vérifier une fois aux trois mois.

(Un résultat < 15 UFC/1000 cm² est jugé satisfaisant).

1.4.2 Surfaces de travail

Vérifier aux trois mois la stérilité des surfaces de travail (incubateurs, tables de travail, espace de réception des échantillons, réfrigérateurs). La stérilité des tables de travail doit être vérifiée mensuellement.

(Un résultat < 25 UFC/25 cm² est jugé satisfaisant).

2 MATÉRIEL ET RÉACTIFS (sections 4.6 et 5.9)

L'ensemble du matériel et des réactifs utilisés dans le laboratoire doit avoir été contrôlé avant la première utilisation et les critères spécifiés doivent être respectés. Les données brutes doivent être disponibles et facilement accessibles.

2.1 Membranes filtrantes

Le laboratoire doit exercer des contrôles sur les nouveaux lots de membranes filtrantes utilisés. Il est recommandé de vérifier la présence des caractéristiques suivantes : bonne diffusion du milieu de culture, non diffusion de l'encre du quadrillé et absence de région hydrophobe.

2.1.1 Conserver une copie de la fiche technique de chaque lot utilisé et enregistrer les numéros de lot ainsi que la date de la première utilisation.

2.1.2 Vérifier la conformité des colonies aux caractéristiques des protocoles d'analyse pour chaque nouveau lot, en utilisant les différents milieux de culture employés pour la technique de la membrane filtrante; enregistrer les données obtenues.

2.1.3 Mesurer et enregistrer le pourcentage de récupération des membranes filtrantes. Il doit être supérieur à 80 %.

2.2 Verrerie et autres éléments

La verrerie et les contenants de prélèvement utilisés en microbiologie doivent être exempts de tout produit bactériostatique ou bactéricide et être en parfait état après le lavage.

L'instruction de travail concernant le lavage de la verrerie et des contenants de prélèvement doit être disponible et affichée dans le laboratoire.

2.2.1 Le laboratoire doit élaborer une instruction de lavage efficace pour ses diverses opérations comprenant au moins les étapes suivantes : lavage au détergent, rinçage à l'eau chaude du robinet, dernier rinçage à l'eau distillée ou déminéralisée.

2.2.2 Pour le lavage à la main, le détergent utilisé doit être sans phosphate et de pH neutre.

2.2.3 Vérifier et enregistrer aux trimestres, et lorsque l'instruction de lavage ou le détergent sont changés, la présence de résidus inhibiteurs acides ou alcalins sur différents articles incluant la verrerie et les contenants de prélèvement. Le résultat doit être à l'intérieur des limites acceptables soit entre 6,5 et 7,3, si le bleu de bromothymol est utilisé comme indicateur. La solution de bleu de bromothymol doit être conservée à l'abri de la lumière.

2.3 Milieux de culture et réactifs

Les milieux de culture déshydratés et les réactifs doivent être entreposés selon les recommandations du fabricant. De plus, ils doivent être utilisés dans les délais acceptables prescrits par celui-ci.

Chaque nouveau lot de milieu de culture doit être contrôlé pour s'assurer de sa conformité aux critères des méthodes d'analyse. L'efficacité des nouveaux lots reçus doit être vérifiée par une mesure du pourcentage de récupération et par un test de sélectivité (s'il y a lieu). Ces contrôles doivent être répétés après six mois si le contenant de milieu de culture n'est pas épuisé.

La sélectivité doit être vérifiée sur chaque nouveau lot de substrat enzymatique.

Également, à chaque préparation de milieu de culture, la stérilité et le pH doivent être vérifiés et enregistrés. Les milieux réhydratés doivent être utilisés selon les délais acceptables prescrits dans les méthodes d'analyse (voir ANNEXE I).

2.3.1 Le laboratoire doit maintenir un inventaire à jour des milieux déshydratés et des réactifs. Le registre doit contenir au moins les renseignements suivants :

- nom du manufacturier;
- numéro de lot du produit;
- date de réception;
- date d'expiration.

2.3.2 Vérifier et enregistrer le pourcentage de récupération des nouveaux lots de milieux de culture; répéter après six mois si le contenant de milieu n'est pas épuisé. Le pourcentage de récupération doit être supérieur à 80 %. Vérifier également la sélectivité des milieux à l'aide de souches de contrôle positives et négatives; enregistrer les résultats.

2.3.3 Vérifier et enregistrer la sélectivité des nouveaux lots de substrat enzymatique à l'aide de souches de contrôle positive et négative; enregistrer les résultats.

2.3.4 Le registre de la préparation des milieux de culture doit au moins contenir les renseignements suivants :

- identification du milieu de culture;
- date de préparation;
- date d'expiration de la préparation;
- numéro de lot;
- test de stérilité;
- pH final;
- initiales de l'analyste.

2.4 Eau de rinçage ou de dilution (tampon phosphate, eau peptonée ou eau déminéralisée stérile)

2.4.1 La stérilité de chaque lot de bouteilles d'eau de rinçage, de dilution ou d'eau déminéralisée stérile doit être vérifiée et enregistrée. Le pH de l'eau de rinçage ou de dilution doit satisfaire aux critères des méthodes d'analyse. Le registre de la préparation de l'eau de rinçage, de dilution ou d'eau déminéralisée stérile doit au moins contenir les renseignements suivants :

- date de préparation;
- date d'expiration;
- numéro de lot;
- test de stérilité;
- pH, lorsque requis;
- volume d'eau de dilution après stérilisation, lorsque requis;
- initiales de l'analyste.

2.5 Eau déminéralisée ou distillée

Les milieux de culture, les réactifs de même que l'eau de dilution ou de rinçage servant aux analyses microbiologiques sont nécessairement préparés à l'aide d'eau déminéralisée ou distillée. L'efficacité du système de purification de l'eau doit être vérifiée à intervalles réguliers, et les mesures correctives nécessaires doivent être appliquées, car la qualité des résultats d'analyse en dépend. Les résultats des contrôles doivent être disponibles dans le laboratoire de microbiologie.

2.5.1 Dénombrer et enregistrer sur une base mensuelle les bactéries hétérotrophes aérobies et anaérobies facultatives (un résultat d'eau fraîche < 1000 UFC/ml est jugé satisfaisant).

2.5.2 L'eau entreposée ne doit pas être conservée plus d'une semaine dans un contenant stérilisé. S'il est impossible de stériliser le contenant à l'autoclave, un entretien régulier doit être effectué. Une instruction d'entretien doit être disponible et affichée au laboratoire.

2.5.3 Vérifier les paramètres suivants selon les fréquences établies et enregistrer les résultats :

PARAMÈTRE	FRÉQUENCE	RÉSULTATS ATTENDUS
Conductivité	1/semaine	< 2 micromhos/cm à 25 °C
pH ⁽¹⁾	1/semaine	5,5 - 7,5
Chlore résiduel	1/mois	< 0,1 mg/l
Carbone organique total	1/6 mois ⁽²⁾	< 1 mg/l
Métaux ⁽³⁾	1/année ⁽²⁾	< 0,05 mg/l individuel
Métaux totaux ⁽⁴⁾	1/année ⁽²⁾	< 0,1 mg/l
Azote ammoniacal	1/6 mois	< 0,1 mg/l

- (1) Lorsque la conductivité de l'eau est inférieure à 1 micromho/cm à 25 °C, la mesure du pH peut être problématique.
- (2) Plus fréquemment, si des problèmes surviennent dans les travaux d'analyse.
- (3) Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn.
- (4) La somme des concentrations des métaux indiqués au point (3).

Si les analyses de carbone organique total, des métaux et de l'azote ammoniacal sont réalisées à l'interne, l'usage de l'eau provenant du même système d'eau distillée ou déminéralisée à titre de blanc d'analyse est à éviter. Les analyses de carbone organique total, des métaux et de l'azote ammoniacal doivent être réalisées dans un laboratoire accrédité.

2.6 Contenants de prélèvement

Les contenants de prélèvement doivent être capables de contenir un volume suffisant d'échantillon pour les tests requis. Ils doivent protéger les échantillons des contaminations extérieures jusqu'à ce que les analyses soient complétées. Ils doivent également permettre un nettoyage et une stérilisation adéquate lorsqu'ils ne sont pas à usage unique. Lors des prélèvements, un espace d'air d'au moins 2,5 cm doit être prévu entre l'échantillon et le bouchon. On utilise nécessairement des contenants de verre ou de plastique non toxique comme le polypropylène.

Une solution de thiosulfate de sodium doit être utilisée comme agent de conservation. La concentration finale dans l'échantillon doit être de 0,01 % p/v, ce qui correspond à environ 29 mg/l en sodium. Cette concentration en thiosulfate permet de neutraliser une quantité de chlore résiduel libre correspondant à 15 mg/l.

Le laboratoire doit vérifier la stérilité d'au moins un contenant par lot de stérilisation et d'un minimum de 2 % de l'ensemble des contenants. Les contenants préréprouvés obtenus d'un fabricant doivent être vérifiés pour la stérilité sur 2 % de l'ensemble des contenants d'un lot avant leur mise en circulation. Ces vérifications sont effectuées à l'aide d'un bouillon riche non sélectif.

Une date d'expiration de 120 jours doit être inscrite sur chaque contenant à moins que les contenants soient protégés par un sceau de sécurité (scellé). Un numéro de lot doit également être inscrit sur chacun des contenants.

Certains laboratoires ont recours à des pharmacies comme dépositaires de contenants de prélèvement (seules les pharmacies peuvent être utilisées à cette fin.). Lorsque des contenants sont en consigne, le laboratoire doit apposer un sceau de sécurité (scellé) sur les bouchons des contenants afin d'assurer aux clients l'intégrité et la stérilité des contenants et joindre une note avertissant ceux-ci de ne pas utiliser un contenant lorsque le sceau est brisé. De plus, le laboratoire doit s'assurer que la direction de la pharmacie protège les contenants contre les sources de contamination potentielles. Tous les résultats de ces vérifications doivent être enregistrés.

2.6.1 Vérifier la stérilité des contenants de prélèvement et enregistrer les résultats. Identifier les lots de contenants placés en consigne dans une pharmacie.

2.6.2 Enregistrer la date d'expiration des contenants de prélèvement, s'il y a lieu.

2.6.3 Le laboratoire doit avoir une instruction de préparation de la solution de thiosulfate et des contenants.

2.6.4 Le laboratoire doit vérifier la teneur en thiosulfate de sodium pour les contenants de prélèvement obtenus d'un fabricant.

2.7 Souches de contrôle

Les souches de contrôle sont utilisées, entre autres, pour vérifier la qualité des matériaux d'analyse. Le laboratoire doit maintenir un inventaire à jour des souches disponibles. Il doit également s'assurer de conserver et de manipuler adéquatement les souches et de vérifier périodiquement les caractères phénotypiques et l'activité biochimique.

2.7.1 Le laboratoire doit posséder une liste à jour des souches de contrôle disponibles.

2.7.2 Le laboratoire doit avoir une instruction de conservation et de manipulation des souches de contrôle permettant de maintenir leur intégrité et d'éviter toute mauvaise utilisation. Enregistrer les résultats relatifs à l'application de cette instruction.

2.7.3 Le laboratoire doit avoir une instruction pour assurer la vérification des caractères phénotypiques et de l'activité biochimique des souches de contrôle à chaque nouvelle culture d'une souche à partir d'un disque « bactrol[®] », d'un « culti-loop[®] », d'un « cryobille », d'une décongélation, etc. et au minimum une fois par année. Enregistrer les résultats relatifs à l'application de cette instruction.

2.8 Réactifs de confirmation et d'identification

Tous les réactifs utilisés pour la confirmation et l'identification des colonies doivent être contrôlés à la réception et périodiquement, selon l'utilisation du réactif. Les résultats de ces contrôles doivent être enregistrés.

2.8.1 Enregistrer les résultats des contrôles de chaque lot de réactifs de confirmation et d'identification.

3 ÉQUIPEMENTS (sections 5.5 et 5.6)

Les équipements de laboratoire doivent être en bon état et conformes aux méthodes d'analyse utilisées. Chaque équipement doit posséder un registre d'entretien et de réparation et faire l'objet d'un programme de vérification périodique de la performance. Toutes les activités d'entretien et de réparation doivent être consignées par écrit. Les instructions du fabricant, si elles sont disponibles, sont rendues accessibles dans le laboratoire. Les instruments et équipements défectueux ou non performants sont retirés et clairement identifiés jusqu'à la résolution du problème. De façon générale, tous les équipements devraient satisfaire aux spécifications du manufacturier. Des instructions concernant l'utilisation et l'entretien des équipements doivent être disponibles et le personnel doit être formé pour l'utilisation de ces équipements.

3.1 Système d'inventaire des équipements

Le registre d'inventaire des équipements indiqués à la présente section doit contenir au moins les renseignements suivants :

- type d'équipement;
- numéro d'inventaire;
- modèle et numéro de série;
- nom du fabricant;
- emplacement actuel, le cas échéant;
- date de réception;
- état à la réception (neuf, usagé, remis en état de fonctionnement);
- date de la mise en service.

3.2 Autoclave

À chaque cycle de stérilisation, il faut s'assurer que l'autoclave atteint et maintient la bonne température (121 °C) et la bonne pression interne. Pour préserver la qualité des milieux et réactifs utilisés, les procédures doivent permettre une diminution lente de la température et de la pression de l'autoclave. Une surcharge de l'appareil empêche une stérilisation efficace.

3.2.1 Pour chaque cycle de stérilisation, enregistrer les renseignements suivants :

- date;
- durée et température de stérilisation;
- matériel stérilisé;
- réaction du ruban thermosensible;
- initiales du préposé.

3.2.2 Vérifier le bon fonctionnement et l'efficacité de stérilisation de l'autoclave mensuellement, avec un indicateur biologique, et enregistrer les résultats.

3.3 Incubateurs et bains-marie

Les incubateurs et bains-marie doivent être propres et en bon état de fonctionnement. Le niveau de contamination des incubateurs doit être inférieur à la limite spécifiée à la section 1.4.2 du présent document. Pour les incubateurs, les thermomètres sont à l'intérieur et baignent dans l'eau ou le glycérol. Le taux d'humidité des incubateurs doit être vérifié à l'aide d'un hygromètre placé à l'intérieur.

Le laboratoire doit enregistrer les températures des incubateurs et bains-marie en avant-midi et en après-midi, pour chaque jour d'utilisation ou au moins deux fois par jour, à des intervalles de lecture d'au moins 4 heures. Les températures doivent se situer dans les intervalles prescrits aux protocoles analytiques.

Les incubateurs et bains-marie doivent être contrôlés au moins une fois l'an pour s'assurer de leur efficacité à maintenir une température d'incubation uniforme et pour éviter l'apparition d'un gradient de température. Le thermomètre de lecture, conservé à son emplacement habituel, doit être comparé avec un autre thermomètre qui est déplacé dans l'unité d'incubation. Le laboratoire doit définir un critère d'acceptabilité qui respecte les exigences des méthodes d'analyse.

3.3.1 Nettoyer les incubateurs et les bains-marie régulièrement.

3.3.2 Déterminer le niveau de contamination des incubateurs selon la fréquence spécifiée à la section 1.4.2.

3.3.3 Enregistrer la température des incubateurs et bains-marie deux fois par jour.

3.3.4 S'assurer de la présence d'un hygromètre dans les incubateurs. Enregistrer une fois par jour le taux d'humidité de l'incubateur.

3.3.5 Enregistrer les résultats des vérifications annuelles de l'efficacité des incubateurs et des bains-marie.

3.4 Réfrigérateurs

Les réfrigérateurs doivent être propres et le niveau de contamination doit être inférieur à la limite spécifiée à la section 1.4.2 du présent document. Tout le matériel doit être identifié et bien disposé, de façon à éviter les risques de contamination croisée (eau de dilution *versus* échantillons contaminés, etc.). Le matériel périssable doit porter une date d'expiration. Il faut s'assurer que le contrôle de température est bien calibré et qu'il maintient la température à 4 ± 2 °C. Les thermomètres, placés à l'intérieur, doivent baigner dans l'eau ou du glycérol. La température doit être enregistrée au moins une fois par jour.

3.4.1 Nettoyer les réfrigérateurs périodiquement et éliminer le matériel périmé.

3.4.2 Déterminer le niveau de contamination selon la fréquence spécifiée à la section 1.4.2.

3.4.3 Enregistrer la température des réfrigérateurs une fois par jour.

3.5 Thermomètres

La graduation des thermomètres ou des appareils enregistreurs de température, pour les unités d'incubation, ne doit pas excéder 0,2 °C ou 0,5 °C selon la méthode analytique utilisée. La colonne de mercure des thermomètres doit être continue. Les thermomètres du laboratoire sont vérifiés annuellement avec un thermomètre de référence (précision de $\pm 0,1$ °C).

Ce thermomètre doit être étalonné, à chacune des températures d'utilisation, au minimum une fois à tous les trois ans, par un laboratoire d'étalonnage accrédité par un organisme reconnu. L'organisme doit pouvoir fournir un certificat d'étalonnage. Le laboratoire doit définir un critère d'acceptabilité qui respecte les exigences des méthodes d'analyse.

3.5.1 La vérification des thermomètres du laboratoire est enregistrée annuellement.

3.5.2 S'assurer que la précision des thermomètres est conforme aux exigences de l'analyse.

3.6 Équipements de filtration

Les entonnoirs doivent être en acier inoxydable, en verre ou en plastique pouvant aller à l'autoclave, de façon à éviter la corrosion. Les entonnoirs qui causent des fuites doivent être réparés ou remplacés. Les entonnoirs en acier inoxydable sont enduits d'une solution de silicone non bactéricide aux six mois. Tout l'équipement de filtration (rampe, entonnoirs et pompe) doit être propre et en bon état. Un calibrage des entonnoirs est requis également afin de s'assurer l'utilisation d'un volume d'échantillon adéquat lors des analyses.

3.6.1 S'assurer du bon état et de la propreté des équipements de filtration.

3.6.2 S'assurer de la disponibilité de silicone non bactéricide au laboratoire, lorsque les entonnoirs de filtration sont en métal. Vérifier la toxicité de la solution de silicone utilisée.

3.6.3 Effectuer et enregistrer le calibrage des entonnoirs à la réception, et annuellement par la suite, si le support du filtre est muni d'une grille. Les entonnoirs doivent être appariés avec leur support.

3.7 Stérilisateur UV pour désinfection des équipements de filtration

À chaque utilisation, on doit s'assurer que les réflecteurs sont bien polis et vérifier le bon fonctionnement des lampes UV. L'efficacité germicide doit être vérifiée semestriellement par une analyse bactériologique de contrôle. Au besoin, nettoyer la surface des réflecteurs et les lampes UV avec un linge humide et assécher.

3.7.1 Vérifier le bon fonctionnement des lampes hebdomadairement et enregistrer les résultats.

3.7.2 Effectuer les tests d'efficacité germicide deux fois par année et enregistrer les résultats. Un pourcentage supérieur à 99 % est attendu.

3.8 pH-mètre

Le pH-mètre doit détecter des variations de 0,1 unité de pH ou moins. À chaque utilisation, on doit vérifier si l'électrode est saturée d'électrolyte et étalonner l'appareil à l'aide de 2 tampons différents dont les pH se situent de part et d'autre du pH de la solution à mesurer. La valeur de la pente du pH-mètre doit être également disponible.

3.8.1 S'assurer de la disponibilité d'une instruction d'étalonnage du pH-mètre et inscrire hebdomadairement dans un registre la valeur de la pente et la date de vérification.

3.9 Balances

À chaque jour d'utilisation d'une balance, on doit s'assurer qu'elle est au niveau et qu'elle est exempte de poussière. Les balances doivent être placées à l'abri de courants d'air, dans un endroit peu fréquenté du laboratoire et sur une table à l'épreuve des vibrations. La balance doit être d'une précision d'un minimum de $\pm 0,1$ g. Le calibrage de la balance est vérifié aux trois mois à l'aide d'un assortiment de poids de référence. Ces poids doivent être étalonnés au minimum une fois à tous les trois ans par un laboratoire d'étalonnage accrédité par un organisme reconnu. L'organisme doit pouvoir fournir un certificat d'étalonnage. Si l'étalonnage de la balance est effectué par une firme externe, celle-ci doit être accréditée par un organisme reconnu. Cet étalonnage ne remplace pas le besoin de vérifier le calibrage sur une base trimestrielle.

3.9.1 Vérifier le calibrage de la balance trimestriellement à l'aide d'un assortiment de poids de référence étalonnés par un organisme reconnu et enregistrer la vérification.

3.10 Micropipettes

Les micropipettes utilisées pour les analyses doivent être étalonnées annuellement. La méthode d'étalonnage doit fournir des critères d'acceptabilité qui respectent les exigences des méthodes.

3.10.1 Vérifier l'étalonnage des micropipettes annuellement et enregistrer la vérification.

3.11 Appareil UV servant à l'observation de la fluorescence pour l'obtention d'un résultat analytique

Les appareils UV servant à l'observation de la fluorescence des colonies ou d'un substrat enzymatique doivent être vérifiés deux fois par année.

3.11.1 Vérifier deux fois par année, avec un échantillon positif, les appareils UV servant à l'observation de la fluorescence et enregistrer les résultats.

4 MÉTHODES D'ANALYSE (sections 5.4 et 5.9)

4.1 Calendrier des contrôles de la qualité

Le laboratoire doit avoir un calendrier des contrôles de la qualité, afin d'effectuer les différentes opérations de vérification décrites dans ce document. Le calendrier doit contenir la liste des contrôles, leur fréquence d'application et les initiales des analystes. Ce calendrier est affiché dans le laboratoire, à la vue du personnel.

4.2 Contrôle de la stérilité

Pour assurer des résultats d'analyse fiables, il est essentiel d'intégrer des contrôles de stérilité au travail de routine. Ces contrôles devront tenir compte des paramètres analysés, de la méthode utilisée et de la sélectivité. Les résultats doivent être inscrits sur la feuille de travail.

4.2.1 Pour la méthode de la membrane filtrante, vérifier la stérilité de l'équipement de filtration avant chaque série de filtrations (1/10 échantillons) pour chacun des milieux de culture utilisés et enregistrer clairement le résultat sur la feuille de travail.

4.2.2 Pour les méthodes autres que la méthode de la membrane filtrante, vérifier la stérilité selon les prescriptions de la méthode d'analyse et enregistrer clairement les résultats sur la feuille de travail (ex. : présence/absence, incorporation à la gélose).

4.3 Confirmation des résultats

4.3.1 Coliformes totaux et coliformes fécaux ou *E. coli* : méthode de la membrane filtrante

Le laboratoire doit confirmer les colonies typiques de coliformes totaux et de coliformes fécaux ou *E. coli* selon la fréquence prévue et noter les résultats dans un registre.

4.3.1.1 Maintenir en tout temps la fréquence minimale, sur une base hebdomadaire, de confirmation de cinq colonies de coliformes totaux.

4.3.1.2 Confirmer et enregistrer, sur une base mensuelle, cinq colonies de coliformes fécaux ou *E. coli* d'un ou de plusieurs échantillons positifs ou, à défaut, d'une souche pure d'*E. coli*.

4.3.2 Coliformes totaux (colonies atypiques) : méthode de la membrane filtrante pour l'eau potable

Le laboratoire doit confirmer les colonies atypiques sur le milieu utilisé pour le dénombrement des coliformes totaux. Les confirmations doivent être effectuées selon la fréquence prévue et les résultats notés dans un registre.

4.3.2.1 Confirmer et enregistrer un minimum de deux colonies atypiques pour les échantillons d'eau potable ayant une numération inférieure à 30 UFC par membrane pour les colonies atypiques. De plus, au moins une colonie par morphologie coloniale différente doit être confirmée.

4.3.2.2 Confirmer et enregistrer 10 % des colonies atypiques jusqu'à concurrence de cinq colonies pour les échantillons d'eau potable ayant une numération supérieure à 30 UFC par membrane pour les colonies atypiques. De plus, au moins une colonie par morphologie coloniale différente doit être confirmée.

4.3.3 *Escherichia coli* : méthode de la membrane filtrante pour les eaux brutes conformément au Règlement (article 53)

Le laboratoire doit confirmer les colonies typiques de coliformes fécaux pour les échantillons d'eaux brutes analysés conformément à l'article 53 du Règlement de la façon suivante pour produire des résultats en *E. coli* :

4.3.3.1 Confirmer et enregistrer un minimum de deux colonies typiques pour les échantillons ayant une numération inférieure à 30 UFC par membrane. De plus, au moins une colonie par morphologie coloniale différente doit être confirmée.

4.3.3.2 Confirmer et enregistrer 10 % des colonies typiques jusqu'à concurrence de cinq colonies pour les échantillons ayant une numération supérieure à 30 UFC par membrane. De plus, au moins une colonie par morphologie coloniale différente doit être confirmée.

4.3.4 Autres paramètres : méthode de la membrane filtrante

Le laboratoire doit posséder des moyens pour confirmer la présence de micro-organismes des paramètres Entérocoques, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, ou les identifier, s'il est accrédité pour analyser ces paramètres.

4.3.5 Autres méthodes

4.3.5.1 Pour les méthodes de présence/absence par substrat enzymatique (coliformes totaux et *E. coli*) :

4.3.5.1.1 Confirmer un échantillon positif ou, à défaut, une souche positive, au moins une fois par semaine pour les coliformes totaux à l'aide d'un autre test ONPG, ou d'un système d'identification biochimique, et de la cytochrome oxydase et enregistrer les résultats.

4.3.5.1.2 Confirmer un échantillon positif ou, à défaut, une souche positive, au moins une fois par semaine pour *E. coli* à l'aide d'un autre test MUG, ou d'un système d'identification biochimique, et de la cytochrome oxydase et enregistrer les résultats.

4.4 Validation, vérification et suivi de la performance des méthodes utilisées

La validation initiale (primaire) d'une méthode d'analyse entraîne la détermination de plusieurs paramètres : la limite de détection (LDM), les limites de quantification (LQM), la fidélité (réplicabilité, répétabilité, reproductibilité), la performance, la sélectivité et, finalement, la récupération. Ce type de validation doit être effectué par l'organisme ou le laboratoire qui conçoit une nouvelle méthode d'analyse.

À l'intérieur du Programme d'accréditation des laboratoires d'analyse (PALA), les laboratoires doivent utiliser des méthodes de référence normalisées provenant d'organismes reconnus (CEAEQ, MOH, USEPA, Santé Canada, ISO, AFNOR, etc.). Ils doivent effectuer une vérification des méthodes au laboratoire avant de les utiliser et démontrer qu'ils sont capables d'obtenir une performance comparable ou supérieure aux données de validation disponibles dans les méthodes de référence normalisées. On parle ici de validation secondaire.

Lorsque les méthodes sont utilisées au laboratoire, elles doivent faire l'objet d'un suivi pour s'assurer qu'elles répondent en continu aux données de validation obtenues lors de la validation initiale. De plus, les analystes doivent avoir été formés et reconnus comme compétents avant de pouvoir analyser des échantillons à l'aide d'une méthode donnée. Des preuves de cette formation et de la reconnaissance des compétences doivent être conservées.

Le document *Protocole pour la validation et la vérification d'une méthode d'analyse en microbiologie* (DR-12-VMM) décrit l'approche de validation préconisée par le CEAEQ qui doit être suivie par l'ensemble des laboratoires accrédités pour ce secteur.

4.4.1 Validation d'une nouvelle méthode préalable à l'implantation au laboratoire (demande d'accréditation ou élargissement de portée).

Le laboratoire doit effectuer une évaluation de la nouvelle méthode avec au moins vingt échantillons positifs différents ou plus, selon les matrices qui sont analysées à l'aide de cette méthode.

Selon la technique utilisée (voir le tableau 1), le laboratoire doit documenter la performance (sensibilité, spécificité, taux de faux positifs, taux de faux négatifs, efficacité) et la sélectivité de la méthode, établir la répétabilité et la répliquabilité ainsi que le pourcentage de récupération à partir d'échantillons naturels qui peuvent êtreensemencés avec l'organisme cible. Il doit comparer les données de validation obtenues à celles publiées dans les méthodes de référence normalisées.

Finalement, la méthode doit être évaluée à l'aide d'échantillons de performance lors d'un essai d'aptitude préliminaire.

Les échantillons utilisés doivent être, autant que possible, semblables aux échantillons qui sont analysés de routine à l'aide de cette méthode.

Tableau 1

	Membranes filtrantes	Incorporation à la gélose	Présence/Absence
Répliquabilité	X	X	
Répétabilité	X	X	
Pourcentage de récupération	X		
Performance (sensibilité, spécificité, taux de faux positifs et de faux négatifs)	X		
Sélectivité	X		

X : Ces éléments doivent être documentés par le laboratoire.

4.4.2 Validation d'une nouvelle méthode préalable à l'implantation au laboratoire pour un paramètre déjà accrédité (changement de méthode)

Le laboratoire doit effectuer une comparaison de la performance de la nouvelle méthode avec celle qui est remplacée, à l'aide d'au moins vingt échantillons positifs différents ou plus, selon les matrices qui sont analysées à l'aide de cette méthode. Une analyse statistique des résultats doit être faite (ex. : à l'aide d'un test de T ou de F) avant et après confirmation biochimique (pour les analyses requérant une confirmation).

Selon la technique utilisée (voir le tableau 2), le laboratoire doit documenter la performance (sensibilité, spécificité, taux de faux positifs, taux de faux négatifs, efficacité) et la sélectivité, établir la répétabilité et la répliquabilité ainsi que le pourcentage de récupération à partir d'échantillons naturels qui peuvent êtreensemencés avec l'organisme cible. Il doit comparer les données de validation obtenues à celles obtenues pour la méthode qui est remplacée et celles publiées dans les méthodes de référence normalisées.

Finalement, la méthode doit être évaluée à l'aide d'échantillons de performance lors d'un essai d'aptitude préliminaire.

Les échantillons utilisés doivent être, autant que possible, semblables aux échantillons qui seront analysés de routine à l'aide de cette méthode.

Tableau 2

	Membranes filtrantes	Incorporation à la gélose	Présence/Absence
Répliquabilité	X	X	
Répétabilité	X	X	
Pourcentage de récupération	X		
Performance (sensibilité, spécificité, taux de faux positifs et de faux négatifs)	X		
Sélectivité	X		

X : Ces éléments doivent être documentés par le laboratoire.

4.4.3 Suivi de la performance des méthodes

- 4.4.3.1 Des données de validation doivent être disponibles pour l'ensemble des méthodes utilisées. Selon la technique utilisée (voir le tableau 3), le laboratoire doit documenter les éléments suivants et les comparer aux données publiées dans les méthodes de référence normalisées : la répétabilité, la répliquabilité de chaque analyste, la performance (sensibilité, spécificité, taux de faux positifs, taux de faux négatif, efficacité) et la sélectivité. Ces deux derniers éléments peuvent être déterminés à l'aide des confirmations biochimiques effectuées pour satisfaire aux exigences de la section 4.3 du présent document.

Tableau 3

	Membranes filtrantes	Incorporation à la gélose	Présence/Absence
Répliquabilité	X	X	
Répétabilité	X	X	
Pourcentage de récupération	X		
Performance (sensibilité, spécificité, taux de faux positifs et de faux négatifs)	X		
Sélectivité	X		

X : Ces éléments doivent être documentés par le laboratoire.

4.4.3.2 Pour les techniques de filtration sur membrane filtrante et d'incorporation à la gélose, le laboratoire doit vérifier les éléments suivants :

Le laboratoire doit inclure l'analyse de duplicata, qui peuvent être des échantillons naturelsensemencés avec l'organisme cible (échantillons fortifiés), à raison d'une fréquence de un duplicata par paramètre par 50 échantillons analysés. L'analyse doit inclure la réalisation de dilutions, s'il y a lieu. Des critères d'acceptabilité doivent être établis. Trimestriellement, le laboratoire doit s'assurer que des duplicata sont analysés par des analystes différents pour des matrices naturellement contaminées (échantillons positifs) ou pour des échantillons fortifiés pour chacun des paramètres. Des critères d'acceptabilité doivent être établis.

Annuellement, le laboratoire doit effectuer une comparaison de lecture d'un échantillon naturel positif pour l'ensemble des analystes et pour chacun des paramètres analysés. Des critères d'acceptabilité doivent être établis.

Pour la méthode de présence/absence par substrat enzymatique (coliformes totaux et *E. coli*), le laboratoire doit inclure des contrôles positifs en utilisant une souche positive de coliformes totaux et une souche d'*E. coli* au minimum une fois par semaine d'analyse.

Pour la méthode de présence/absence pour les salmonelles, un contrôle de matrice doit être réalisé pour chaque échantillon.

Pour la méthode de présence/absence pour les coliphages, un contrôle positif ou un contrôle de matrice doit être réalisé pour chaque série d'analyse.

Le tableau 4 résume les contrôles de la méthode qui doivent être effectués selon la technique utilisée :

Tableau 4

	Membranes filtrantes	Incorporation à la gélose	Présence/Absence (coliformes totaux, <i>E. coli</i>)	Présence/Absence (salmonelles)	Présence/Absence (coliphages)
Duplicata intra-analyste	X	X			
Duplicata inter-analyste trimestriel	X	X			
Comparaison de lecture annuelle	X	X			
Contrôle positif au minimum une fois par semaine d'analyse			X		
Contrôle de matrice par échantillon				X	
Contrôle positif ou contrôle de matrice par série d'analyses					X

X : Ces éléments doivent être effectués par le laboratoire.

4.4.4 Évaluation et suivi de la compétence des analystes

La compétence des analystes doit être évaluée avant de les autoriser à réaliser une méthode donnée (à l'exception des méthodes de présence/absence). Cette évaluation est réalisée à l'aide d'essais de réplicabilité effectués sur des échantillons synthétiques ou naturels contaminés. Des critères doivent être établis pour chacune des méthodes. Un suivi de la compétence est effectué annuellement à l'aide des résultats obtenus lors des analyses de duplicata en cours d'année. Des critères doivent être établis pour chacune des méthodes.

4.4.5 Vérification des données de validation

Les données de validation doivent être vérifiées au minimum annuellement et mises à jour lorsque des changements importants sont apportés aux équipements ou lorsqu'il y a une modification importante de l'équipe d'analystes. L'information concernant l'actualisation des méthodes doit être conservée. La vérification des données de validation peut se faire à l'aide des résultats des duplicata inter-analyste et intra-analyste, des résultats des essais d'aptitude et des confirmations des colonies.

4.4.6 Suivi des résultats des essais d'aptitude

Le laboratoire doit être en mesure de démontrer qu'un suivi de ses résultats d'essai d'aptitude est effectué et qu'il entreprend des mesures correctives ou préventives, selon le cas, lorsqu'il ne satisfait pas aux exigences du programme (DR-12-SCA-04).

4.4.7 Vérification des méthodes utilisées

Les méthodes d'analyse employées doivent être connues et assimilées par les utilisateurs. Les évaluateurs vérifieront sur place la connaissance des différentes méthodes d'analyse.

4.5 Conformité réglementaire

Le laboratoire doit respecter tous les règlements en vigueur et pour lesquels des responsabilités sont prévues pour les laboratoires accrédités. Les modalités d'interprétations relatives au Règlement sur la qualité de l'eau potable se retrouvent à l'annexe II.

4.5.1 Les évaluateurs vérifieront sur place le respect des exigences réglementaires et entre autres, les modalités de transmission des résultats d'analyse et l'interprétation des normes applicables en fonction du type d'échantillon analysé.

5 TRAÇABILITÉ DE L'INFORMATION (sections 5.8 et 5.10)

Le mode d'enregistrement des données constitue un facteur important dans l'obtention de résultats fiables. Tous les renseignements concernant les analyses doivent être enregistrés et disponibles de façon que la direction du laboratoire puisse démontrer que ses opérations sont contrôlées. Le laboratoire doit avoir un système défini par écrit permettant d'identifier de façon unique les échantillons à analyser, afin qu'il n'y ait à aucun moment de confusion sur l'identité de tels échantillons. Si un système électronique est utilisé, le laboratoire doit enregistrer la même information que celle exigée dans la présente section. Tous les enregistrements manuscrits doivent être à l'encre.

5.1 Échantillonnage et conservation des échantillons

Le responsable du laboratoire doit s'assurer que ses clients prélèvent adéquatement les échantillons pour les analyses microbiologiques. Un dépliant dans lequel est décrit la technique de prélèvement doit être remis aux clients, avec le formulaire de demande d'analyse et les contenants de prélèvement.

Tous les échantillons d'eau doivent parvenir au laboratoire moins de 48 heures après le prélèvement et être maintenus idéalement à une température d'environ 4 °C. Le thiosulfate de sodium doit être utilisé dans tous les contenants de prélèvement à la concentration précisée dans les méthodes d'analyse.

Pour tous les échantillons d'eau prélevés pour l'application du Règlement sur la qualité de l'eau potable (Q-2, r. 18.1.1) et du Règlement sur la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels (Q-2, r.18.1.02), le responsable du laboratoire doit s'assurer que les informations transmises au client pour le prélèvement de l'échantillon respecte les exigences mentionnées aux fascicules intitulés *Modes de prélèvement et de conservation des échantillons relatifs à l'application du Règlement sur la qualité de l'eau potable* (DR-09-03) et *Méthodes de prélèvement, de conservation et d'analyse des échantillons relatifs à l'évaluation de la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels* (DR-09-05). Lors de la réception d'échantillons, le laboratoire doit s'assurer que ces derniers sont conformes aux exigences suivantes précisées dans les fascicules :

Pour le DR-09-03 :

- les échantillons reçus congelés, partiellement dégelés ou contenant des traces de frasil sont rejetés de même que ceux dépassant le délai de conservation prévu pour les paramètres microbiologiques (48 heures);
- les volumes prélevés (quantité d'échantillon reçu) pour chacun des paramètres doivent respecter les exigences de la réglementation en vigueur;
- la température des échantillons reçus plus d'une heure après le prélèvement doit être mesurée dès leur réception à l'aide d'un thermomètre infrarouge. Le thermomètre infrarouge doit être vérifié annuellement. Le laboratoire doit aviser le responsable du réseau de distribution d'eau si les échantillons dépassent 12 °C;
- lorsque le laboratoire fournit des glacières et des agents réfrigérants, il doit s'assurer que celles-ci sont propres (nettoyage régulier) et autant que possible réservées à l'analyse de l'eau potable.

Pour le DR-09-05 :

- Les échantillons doivent toujours être prélevés dans des contenants stériles à large ouverture.

5.1.1 Mesurer et enregistrer la température des échantillons d'eau potable dès la réception au laboratoire. Un avis est transmis au responsable du système de distribution lorsqu'il y a dépassement.

5.1.2 Enregistrer les raisons liées au rejet des échantillons non conformes.

5.2 Demande d'analyse et enregistrement des échantillons au laboratoire

Le laboratoire doit mettre en place un système d'enregistrement des échantillons permettant de conserver tous les renseignements nécessaires pour assurer une traçabilité adéquate de l'information. Pour tous les échantillons, les renseignements minimaux suivants doivent être disponibles sur support papier ou informatique :

- date du prélèvement;
- identification de l'échantillon;
- identification du point de prélèvement;
- identification du préleveur et adresse;
- identification du client*;
- nature de l'échantillon;
- état de l'échantillon à la réception;
- paramètre(s) demandé(s);
- date de réception;
- numéro de projet (s'il y a lieu);
- numéro de l'échantillon (s'il y a lieu);
- numéro de laboratoire;
- nombre de contenants (s'il y a lieu);
- la température des échantillons (échantillons d'eau potable reçus au laboratoire plus d'une heure après le prélèvement);
- commentaires appropriés.

* Ne s'applique pas aux laboratoires n'offrant pas de services à la clientèle externe.

5.3 Feuille de travail

Les feuilles de travail doivent au moins contenir les renseignements suivants, inscrits à l'encre :

- numéro de l'échantillon;
- date de l'analyse;
- type d'eau analysé;
- volumes d'eau servant à l'analyse;
- résultats correspondant à chaque volume d'eau analysé;
- témoins de stérilité;
- résultats des contrôles positifs (s'il y a lieu);
- numéro de lot des membranes;
- numéros de lot de préparation des milieux de culture et de l'eau de rinçage ou de dilution;

- numéro de l'unité d'incubation utilisée (si plus d'une unité disponible);
- résultats des dénombrements avant la confirmation, s'il y a lieu (colonies typiques et atypiques);
- identification des échantillons confirmés;
- résultats confirmés, le cas échéant;
- résultats analytiques accompagnés des unités pertinentes;
- initiales de l'analyste;
- initiales de la personne qui vérifie l'exactitude des calculs effectués.

5.4 Registre de confirmation

Le registre de confirmation doit au moins contenir les renseignements suivants :

- numéro de l'échantillon;
- date de la confirmation;
- résultats de la confirmation;
- interprétation des résultats;
- initiales de l'analyste.

5.5 Rapport d'analyse

Le rapport d'analyse doit au moins contenir les renseignements suivants, en référence à la disposition 5.10 de la section III du Programme d'accréditation :

- un titre (par exemple : « rapport d'analyse »);
- le nom et l'adresse du laboratoire, ainsi que le lieu où l'analyse a été effectuée, s'il diffère de l'adresse du laboratoire;
- l'indication unique du rapport d'analyse (tel que le numéro de série) et, sur chaque page, une indication permettant d'assurer que la page est reconnue comme faisant partie du rapport, avec une indication claire de la fin du rapport;
- le nom et l'adresse du client (s'il y a lieu);
- le numéro ou une description non ambiguë de l'échantillon;
- les caractéristiques principales et l'état de l'échantillon analysé;
- la date de réception de l'échantillon et la date de l'analyse;
- l'identification de la méthode employée;
- toute divergence, ajout ou suppression par rapport à la méthode d'analyse utilisée;
- les résultats des analyses, accompagnés des unités pertinentes;
- la signature du rapport par le superviseur ou un signataire autorisé et la date d'émission;
- la date de l'échantillonnage.

5.6 Transcription et suivi des données pour les échantillons

Les évaluateurs retraceront une série d'échantillons par domaine d'accréditation pendant l'évaluation sur site et ils vérifieront les éléments suivants :

- numéro de l'échantillon dans le registre d'entrée;
- date de prélèvement;
- date de réception;

- température de l'échantillon dès sa réception (échantillon d'eau potable reçu au laboratoire plus d'une heure après le prélèvement);
- date d'analyse;
- paramètre(s) demandé(s);
- données brutes de la feuille de travail;
- témoins de stérilité, contrôles positifs (s'il y a lieu);
- contrôle de la qualité - membranes filtrantes et autres méthodes;
- contrôle de la qualité - milieux de culture et réactifs;
- contrôle de la qualité - eau de rinçage ou de dilution;
- contrôle de la qualité - eau déminéralisée;
- calculs des résultats d'analyse;
- température d'incubation;
- échantillons confirmés;
- rapport d'analyse.

BIBLIOGRAPHIE

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). *Standard Specification for Reagent Water*, D 1193-91, 1991.

APHA-AWWA-WPCF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21^e édition, Washington DC, 2005.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Modes de prélèvement et de conservation des échantillons relatifs à l'application du Règlement sur la qualité de l'eau potable*, DR-09-03, Québec, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Méthodes de prélèvement, de conservation et d'analyse des échantillons relatifs à l'évaluation de la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels*, DR-09-05, Québec, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Programme d'accréditation des laboratoires d'analyse : Normes et exigences*, DR-12-PALA, Québec, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Protocole pour la validation et la vérification d'une méthode d'analyse en microbiologie*, DR-12-VMM, Québec, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Recherche des coliformes totaux et de Escherichia coli avec le milieu de culture Colilert® : méthode présence/absence*, MA. 700 – Ecct. 1.0, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Recherche des coliphages F-spécifiques et des coliphages somatiques : méthode présence/absence*, MA. 700 – Colph 1.0, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Recherche et dénombrement des coliformes totaux : Méthode par filtration sur membrane*, MA. 700 – Col 1.0, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (thermotolérants) et confirmation à l'espèce Escherichia coli : Méthode par filtration sur membrane*, MA. 700 – Fec.Ec 1.0, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Recherche et dénombrement des bactéries hétérotrophes aérobies et anaérobies facultatives : Méthode par incorporation à la gélose*, MA. 700 – BHA35 1.0, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Recherche et dénombrement des entérocoque : Méthode par filtration sur membrane*, MA. 700 – ENT 1.0, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus : Méthode par filtration sur membrane*, MA. 700 – STA 1.0, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Recherche et dénombrement de Pseudomonas aeruginosa : Méthode par filtration sur membrane*, MA. 700 – PSE 1.0, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Recherche et dénombrement simultanés des coliformes totaux et d'Escherichia coli dans l'eau potable avec le milieu de culture MI : Méthode par filtration sur membrane*, MA. 700 – Ecctmi. 1.0, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Recherche des salmonelles : méthode présence/absence*, MA. 700 – Sal-PA 1.0, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante.

GOVERNEMENT DU QUÉBEC. *Règlement sur la qualité de l'eau potable*, Québec, Gazette officielle du Québec. Partie 2, Lois et Règlements, 137^e année, n^o 22, 1^{er} juin 2005, p. 2169.

ANNEXE I

Délais de conservation et pH attendus des principaux milieux de culture utilisés avec la technique de la membrane filtrante*

Milieux de culture	Délais de conservation	pH attendus
m-Endo	2 semaines à l'obscurité, 4 °C	7,2 ± 0,2
m-Fc	2 semaines à l'obscurité, 4 °C	7,4 ± 0,2
DC medium	1 mois à l'obscurité, 4 °C	7,2 ± 0,2
MI agar	2 semaines à l'obscurité, 4 °C	6,95 ± 0,2
<i>m-Enterococcus</i>	3 semaines à l'obscurité, 4 °C	7,2 ± 0,2
R2A	4 semaines à l'obscurité, 4 °C	7,2 ± 0,2
Baird-Parker	4 semaines à l'obscurité, 4 °C (sans ajout) 1 semaine à l'obscurité, 4 °C (avec ajout)	7,0 ± 0,2
m-PAC	1 semaine à l'obscurité, 4 °C	7,2 ± 0,2
MSRV	2 semaines à l'obscurité, 4 °C	5,4 ± 0,2
XLT 4	2 semaines à l'obscurité, 4°C	7,4 ± 0,2

* Tiré des méthodes d'analyse du ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec (consultez la bibliographie pour plus de renseignements).

ANNEXE II

Modalités d'interprétation applicables au Règlement sur la qualité de l'eau potable

1) Pour les réseaux alimentant 21 personnes ou plus

La présente section précise les modalités applicables à l'interprétation des résultats générés pour le suivi des réseaux alimentant 21 personnes ou plus. En aucun temps, ces modalités ne remplacent celles du Règlement ou des documents connexes publiés par le Ministère.

Coliformes fécaux

Lors du contrôle bactériologique régulier, le Règlement sur la qualité de l'eau potable spécifie qu'un résultat positif en coliformes fécaux entraîne un avis d'ébullition automatique émis par l'exploitant. Cet avis ne sera levé que par le retour à la conformité du système de distribution, selon les exigences du Règlement. La poursuite de l'analyse par une confirmation des coliformes fécaux qui pourrait déterminer l'absence d'*E. coli*, quelques jours plus tard, ne permettra pas de lever l'avis d'ébullition.

Un résultat positif en coliformes fécaux est donc un résultat final qui ne nécessite aucune confirmation.

Le terme « coliformes fécaux présumés » ne doit pas être utilisé pour la transmission des résultats dans le cadre de l'application du présent Règlement.

Un rapport préliminaire avec un dénombrement de coliformes fécaux ne peut pas être annulé ou modifié par un rapport officiel confirmant l'absence ou la présence d'*E. coli*. Cette pratique ne respecte pas le libellé du Règlement.

Pour vérifier le retour à la conformité, si un avis d'ébullition a été émis, il est possible de confirmer les coliformes fécaux afin de vérifier la présence d'*E. coli* et de ne transmettre que le résultat final confirmé. L'utilisation d'une méthode enzymatique permettant la détection d'*E. coli* est recommandée pour l'analyse des échantillons d'eau afin de déterminer le retour à la conformité d'un système de distribution, surtout si les colonies atypiques ne respectaient pas la norme.

Coliformes totaux

Contrairement aux coliformes fécaux, le résultat de l'analyse des coliformes totaux n'est final qu'après confirmation des colonies selon la fréquence indiquée à la section 4.3 du présent document. Le laboratoire doit attendre le résultat des confirmations avant de transmettre l'information dans le cas d'un résultat positif.

Vous devez éviter de transmettre deux résultats différents (préliminaire et final). Ceci entraîne de la confusion et des difficultés dans le suivi de la situation par les intervenants concernés.

Les colonies atypiques et les résultats TNI ou TNC

Les colonies atypiques sont des colonies qui ne présentent pas la morphologie coloniale attendue (aspect et couleur) sur le milieu de culture employé. Vous devez confirmer les colonies atypiques selon la fréquence indiquée à la section 4.3 du présent document.

Les résultats suivants ne respectent pas la norme et doivent être transmis sans délai. Si une confirmation des colonies est effectuée, l'information supplémentaire n'ajoute rien au résultat préalablement obtenu lors du dénombrement. Il s'agit de résultats supérieurs à 200 colonies atypiques (> 200 colonies atypiques), colonies trop nombreuses pour être comptées (TNC) ou trop nombreuses pour être identifiées (TNI).

Lors de la transmission de résultats > 200 colonies atypiques ou TNI, aucun résultat de coliformes totaux ne doit être transmis.

Les résultats en colonies atypiques qui sont inférieurs à 200 UFC par membrane respectent la norme et nécessitent une confirmation.

Les colonies atypiques et les résultats TNI sur les milieux combinés

Le terme « milieu combiné » fait référence aux milieux de culture utilisés pour la détection et le dénombrement simultané des coliformes totaux et d'*Escherichia coli*. Ces milieux sont utilisés par certains laboratoires pour l'analyse de l'eau potable à l'intérieur du Règlement. Il s'agit de milieux tels que MI agar, DC medium et Chromocult®. Il y a cependant certaines particularités qui existent dans l'interprétation des résultats conformes ou non avec ces méthodes :

Un résultat > 200 colonies atypiques par 100 ml (aucune colonie d'*E. coli* présente) : il y a présence de plus de 200 colonies atypiques et une absence de confluence.

- Émission d'un résultat de > 200 colonies atypiques, aucun résultat pour les coliformes totaux et 0 UFC/100 ml pour *E. coli*. Il s'agit d'un résultat non conforme. Le laboratoire doit transmettre immédiatement les résultats à l'exploitant et dans les meilleurs délais possibles pendant les heures ouvrables à la Direction régionale et à la Direction de santé publique.

Un résultat > 200 colonies atypiques par 100 ml avec présence d'au moins une colonie d'*E. coli* : il y a présence de plus de 200 colonies atypiques et une absence de confluence.

- Émission d'un résultat > 200 colonies atypiques, aucun résultat à coliformes totaux et inscription du nombre de colonies observées par UFC/100 ml pour *E. coli*. Le résultat doit être transmis immédiatement par téléphone à l'exploitant, à la Direction régionale et à la Direction de santé publique.

Un résultat TNI (colonies trop nombreuses pour être identifiées) : il y a présence d'un tapis de colonies non différenciées et d'aucune colonie d'*E. coli*. Il y a confluence importante.

- Émission d'un résultat TNI pour les coliformes totaux et *E. coli*. Il s'agit d'un résultat non conforme pour *E. coli*. Le résultat doit être transmis immédiatement par téléphone à l'exploitant, à la Direction régionale et la Direction de santé publique.

Résultats TNI (colonies trop nombreuses pour être identifiées) : il y a présence d'un tapis de colonies non différenciées et de colonies d'*E. coli*. Il y a confluence importante.

- Émission d'un résultat TNI pour les coliformes totaux et pour *E. coli* (inscrire le nombre de colonies observées). Il s'agit d'un résultat positif pour *E. coli*. Le résultat doit être transmis immédiatement par téléphone à l'exploitant, à la Direction régionale et à la Direction de santé publique.

2) **Pour les petits réseaux ou les puits individuels**

Bien que les propriétaires de petits réseaux et de puits individuels ne soient pas assujettis à la majorité des prescriptions du Règlement sur la qualité de l'eau potable, selon l'article 3, l'eau destinée à la consommation humaine doit, lorsqu'elle est mise à la disposition des utilisateurs, satisfaire aux normes de qualité de l'eau potable. Ces normes sont définies dans l'annexe 1 du Règlement.

La présente section définit les exigences de suivi applicable à ce type de système en présence d'une contamination microbiologique qui ne respecte pas les normes du Règlement.

Présence d'organismes d'origine fécale

Une eau destinée à la consommation humaine doit être exempte d'organismes pathogènes et d'organismes indicateurs d'une contamination d'origine fécale, tels que des bactéries coliformes fécales, des bactéries *Escherichia coli*, des bactéries entérocoques et des virus coliphages.

Dans le cas où cette eau s'avère contaminée par des organismes pathogènes ou recèle la présence d'organismes indicateurs de contamination d'origine fécale, vous êtes en présence d'une eau non potable. Vous devez immédiatement prévenir votre client que l'eau analysée est impropre à la consommation et cette eau ne doit être consommée qu'après avoir été bouillie durant une minute. Des mesures correctives doivent également être apportées au système de captage de l'eau.

Présence d'autres organismes

Une eau destinée à la consommation ne doit pas contenir plus de 10 coliformes totaux par 100 ml d'eau prélevée, plus de 200 colonies atypiques par membrane. Elle ne doit pas non plus contenir des bactéries en quantité telle que celles-ci ne peuvent être ni identifiées ni dénombrées. Ces normes de qualité s'appliquent essentiellement lorsqu'une technique de dénombrement par membrane est utilisée.

Dans un tel cas, conformément aux dispositions du Règlement, cette eau ne respecte pas la norme mais l'avis d'ébullition n'est pas obligatoire. Face à une telle situation, vous devez suggérer de procéder à une désinfection, d'évaluer les sources de contamination et de procéder à un nouvel échantillonnage.

**Centre d'expertise
en analyse
environnementale**

Québec 