

5. Plans d'échantillonnage

Les plans d'échantillonnage sont établis en fonction de l'objectif à évaluer : contrôle de qualité régulier, programme de surveillance, recherche de microorganismes pathogènes en fonction de l'évaluation de risque, contrôle réglementaire, etc. Le nombre d'échantillons requis n'est pas toujours de cinq (ICMSF, 1986 ; *Codex Alimentarius*, Norme ISO 2859 ; Jarvis 1989 ; Puri, S.C. 1990).

✓ Méthode d'échantillonnage préconisée par l'ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods)

La Commission Internationale des Normes Microbiologiques relatives aux denrées alimentaires a défini des méthodes d'échantillonnage pour l'analyse systématique des produits alimentaires. Le principe de base est le suivant : un échantillon analysé donne des résultats non satisfaisants s'il renferme des microorganismes dangereux ou s'il contient des germes en nombre supérieur à une limite au-delà de laquelle il devient potentiellement dangereux.

Dans cette méthode le symbole **m** représente la limite permettant de répartir les échantillons en 2 groupes : les acceptables (valeur $\leq m$) et les inacceptables (valeur $\geq m$). Pour certains microorganismes dangereux m peut être égal à 0.

Quand un microorganisme donné est toléré dans un aliment 3 catégories d'échantillons sont définies :

- catégorie 1 (acceptables sans réserve) ;
- catégorie 2 (acceptables mais avec une limite) ;
- catégorie 3 (inacceptables).

m sépare la 1^{ère} et la 2^{ème} catégories et **M** la 2^{ème} et la 3^{ème} (Figure 1).

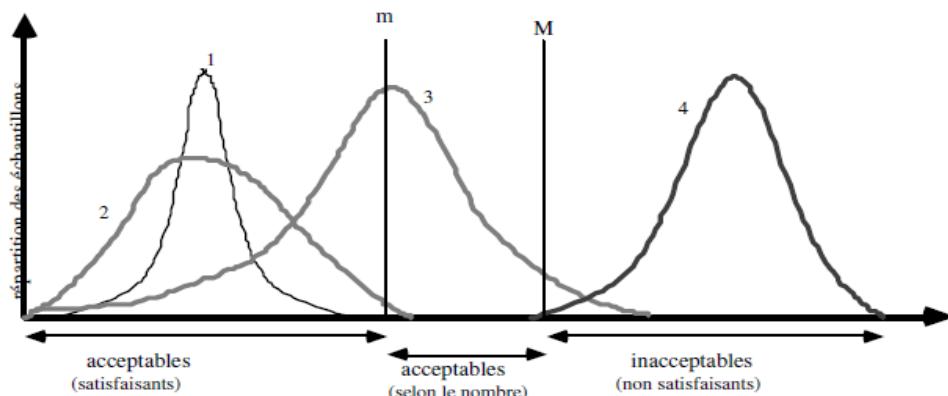


Figure 1. Distribution des échantillons d'après l'ICMSF

L'échantillonnage microbiologique est exprimé en fonction de plans à deux classes ou à trois classes, selon le niveau de risque. Les plans à deux classes sont utilisés quand on ne tolère pas, dans les aliments, la présence d'une contamination microbienne. L'échantillonnage à 3 classes est utilisé quand on tolère la présence d'un certain niveau de contamination.

5.1. Plan d'échantillonnage à deux classes

Dans un plan d'échantillonnage à deux classes, les échantillons analysés sont divisés en deux catégories : **satisfaisant** (acceptable) et **insatisfaisant** (inacceptable), basées sur une valeur limite « $m=M$ ».

Le plan d'échantillonnage à deux classes permet de qualifier simplement chaque unité d'échantillonnage comme satisfaisant (bonne qualité microbiologique) ou insatisfaisant.

Dans certains plans, seule la présence d'un organisme particulier, tel que *Salmonella* spp, est inacceptable.

Dans d'autres plans, un nombre limité d'organismes peut être acceptable. Pour ces derniers, une seule limite est établie et est indiquée par « m ». Elle distingue un compte acceptable d'un compte inacceptable. Le plan à deux classes rejette un lot si plus de « c » unités du nombre « n » d'unités échantillonnées examinées sont inacceptables. En général, $c=0$ pour les microorganismes pathogènes primaires.

Plan d'échantillonnage à deux classes	m	
	Acceptable	Inacceptable
	Satisfaisant	Insatisfaisant

Dans le plan à 2 classes, le résultat de l'analyse peut être :

- «Acceptable ou satisfaisant » si le nombre de germes est inférieur à la norme désignée par la réglementation,
 - «Inacceptable ou insatisfaisant » si le nombre de germes est supérieur à cette même norme.
- Avec un plan d'échantillonnage à 2 classes, n représente le nombre d'échantillons examinés. Il existe deux possibilités pour ce type de plan :

Le symbole c représente le nombre d'échantillons tolérés au-delà de la valeur seuil, nombre qui permet de juger le lot comme satisfaisant.

La rigueur du plan dépend des valeurs de n et de c . Plus grand est n pour une valeur donnée de c , meilleure sera la qualité des lots acceptés. A l'inverse, si pour une valeur donnée de n , c augmente, la rigueur du plan diminue.

5.2. Plan d'échantillonnage à trois classes

Les unités d'échantillonnage présentant un nombre de microorganismes inférieur à la valeur de « m » sont acceptées ou de bonnes qualités. Les unités présentant un nombre entre les valeurs de « m » et « M » sont jugées comme étant de qualité médiocre (marginale), et les unités renfermant plus que la valeur de « M » sont insatisfaisantes en regard des bonnes pratiques de fabrication ou inacceptables.

Dans le cas d'un échantillon récolté au hasard où « n » unités d'échantillonnage seraient choisies dans un lot, le lot serait alors rejeté si une unité présentait un compte au-dessus de la valeur de « M » ou si plus de « c » unités avaient des comptes plus élevés que la valeur de « m ».

Plan d'échantillonnage à trois classes	m		M
	Acceptable	Médiocre	Inacceptable ou insatisfaisant en regard des bonnes pratiques de fabrication
	Satisfaisant	Acceptable	

Dans le plan à 3 classes, le résultat de l'analyse peut être :

- « satisfaisant » si le nombre de germes est inférieur à la norme,
- « acceptable » si le nombre de germes est compris entre 1 et 10 fois la norme,
- « non satisfaisant » si le nombre de germes est supérieur à 10 fois la norme.

Cependant, dans certains cas particuliers, le résultat d'une analyse microbiologique peut être : « (potentiellement) toxique ». Le produit, impropre à la consommation, doit évidemment être immédiatement retiré de la vente.

Le produit est considéré comme corrompu et/ou toxique dans le cas où il y a présence de *Salmonelle*.

De même, par précaution, toute présence de *Listeria* donne lieu à une assimilation du produit à « (potentiellement) toxique », donc à une alerte immédiate et à un retrait du produit sur le champ.

Les symboles et termes utilisés dans les plans et leurs définitions sont les suivants :

n : Représente le nombre d'échantillons unitaires à prélever à partir de chaque lot qui est généralement prélevé au hasard dans un lot.

« **n** » représente la taille de l'échantillon. Selon le cas, « **n** » peut être égal à 1, 2, 3, 4, 5, etc. Le « **n** » peut varier en fonction du risque, du nombre d'unités disponibles, et aussi de la grosseur des lots selon le plan d'échantillonnage utilisé.

Le nombre 5 a été établi par l'ICMSF dans le but d'augmenter les probabilités de détecter un problème microbiologique s'il est présent.

m : La valeur numérique de « **m** » représente des concentrations acceptables de microorganismes, habituellement par g ou ml. Dans un plan à deux classes, « **m** » sert à distinguer les unités de qualité acceptable de celles qui sont de qualité inacceptable. Dans un plan à trois classes, « **m** » sert à distinguer les unités de qualité acceptable de celles qui sont de qualité médiocre.

M : (Plans à trois classes seulement). Représente des concentrations inacceptables de microorganismes, habituellement par g ou ml. Son dépassement représente des conditions inacceptables, non contrôlées et/ou le risque pour la santé, selon le critère. « **M** » distingue les unités de qualité médiocre de celles qui sont de qualité inacceptable. Si la valeur d'une seule unité d'échantillonnage est supérieure à « **M** », l'unité d'échantillonnage ou le lot d'où provient l'échantillon est inacceptable.

c : Représente le nombre maximal permis d'unités d'échantillonnage de qualité médiocre. Si le nombre d'unités de qualité médiocre est supérieur à « **c** », le lot d'où provient l'échantillon devrait être rejeté (inacceptable/insatisfaisant) (le nombre d'unités d'analyse).

Le plan est choisi en fonction de l'estimation du risque pour la santé et du mode d'utilisation de l'aliment. Les germes sont classés en fonction du risque qu'ils font courir au consommateur en :

- germes entraînant un risque sévère (*Clostridium botulinum*, *Salmonella typhi*, *S. paratyphi*, *Shigella dysenteriae*, *Vibrio comma*, *Brucella melitensis*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* type C, virus de l'hépatite A).

- germes entraînant un risque moyen avec possibilité de large diffusion (Staphylocoques entérotoxinogènes, *Salmonella typhimurium* et les autres sérotypes, autres *Shigella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* entéropathogènes, Streptocoques β hémolytiques).

- germes entraînant un risque moyen sans grande diffusion (*Bacillus cereus*, *Brucella abortus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella arizona*, *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni*, etc...).

5.3. Caractéristiques des risques associés aux différents critères

Selon Jean-Louis Jouve, 1996, la définition de critère microbiologique est « *Un ensemble d'éléments qualitatifs et quantitatifs définissant les caractéristiques microbiologiques essentielles attendues d'un produit donné qu'il est possible d'atteindre par des interventions appropriées* ».

Selon le règlement (CE) n° 2073/2005, deux types de critères microbiologiques sont d'application : critères de sécurité alimentaire et critères d'hygiène du procédé.

5.3.1. Les critères de sécurité alimentaire (CSA) définissent l'acceptabilité d'un aliment sur le plan sanitaire et ils s'appliquent principalement aux produits mis sur le marché. Le non-respect d'un critère de sécurité alimentaire entraîne le retrait, le rappel, le retraitement ou le réemploi. Les critères de sécurité alimentaire sont applicables à la fois aux denrées alimentaires mises sur le marché communautaire et aux denrées alimentaires importées dans la Communauté.

5.3.2. Les critères d'hygiène du procédé (CHP) sont des indicateurs de l'acceptabilité du fonctionnement hygiénique du processus de production ou de distribution. Le non-respect d'un critère microbiologique d'hygiène du procédé entraîne des actions correctives destinées à maintenir l'hygiène du procédé (révision des bonnes pratiques d'hygiène et du système HACCP et/ou une meilleure sélection des matières premières). Le non-respect ne permet pas de conclure que l'aliment est impropre à la consommation humaine.

Chaque couple denrée alimentaire-critère microbiologique est caractérisé par un niveau de risque associé, reprenant :

5.3.2.1. Santé 1 : Le danger indiqué représente un risque direct et élevé pour la santé de la population avec des conséquences imminentées sérieuses ou pourrait causer la mort. Des mesures appropriées, suivant une évaluation de risque, seront prises à l'égard du produit afin que le consommateur n'y soit pas exposé. Ces interventions assureront que le produit n'est plus vendu et si nécessaire que la population ne le consomme pas.

5.3.2.2. Santé 2 : Le danger indiqué pour la santé représente un risque pour la santé des êtres humains si les microorganismes sont suffisamment nombreux. Il représente une situation qui pourrait avoir sur la santé des gens des répercussions indésirables temporaires, sans menacer leur vie. La probabilité de répercussions indésirables graves est jugée éloignée. Le danger peut aussi être associé à la présence d'un indicateur (ex.: *E. coli*). Des mesures nécessaires doivent être mises en place pour identifier les causes de la non-conformité et s'assurer que des mesures correctives appropriées sont mises en place pour garantir l'innocuité du produit.

Différentes situations pourraient justifier d'augmenter le niveau de risque de santé 2 à santé 1 lorsque :

- Les produits constituant un risque « santé 2 » sont associés à une maladie lors d'une épidémie d'origine alimentaire ;
- Les microorganismes pathogènes « santé 2 » sont à des concentrations correspondant aux doses infectieuses ou toxigènes ;
- Des produits constituant un risque « santé 2 » pour la population en général sont destinés à des populations sensibles comme les enfants, les personnes âgées ou les personnes dont le système immunitaire est compromis.

5.3.2.3. Critère d'hygiène du procédé (CHP) (Bonnes Pratiques de Fabrication) : Le problème repéré indique une rupture de la pratique d'hygiène. Il faut revoir les bonnes pratiques de fabrication (BPF/HACCP) du fabricant lorsque les valeurs « m », « M » ou « c » sont dépassées. Selon le cas, le non-respect des bonnes pratiques de fabrication peut entraîner un risque pour la santé puisque l'aliment n'est pas produit dans des conditions qui assurent son innocuité.

5.3.2.4. Altération : Le dépassement du critère indique un processus d'altération microbiologique du produit. En général, le dépassement du critère n'entraîne pas de risque pour la santé humaine, mais peut refléter de mauvaises pratiques (ex. : durée de conservation à l'étalage trop longue). Le dépassement du critère n'entraîne pas automatiquement la manifestation d'altération organoleptique macroscopique.

5.4. Formulation de l'interprétation des résultats microbiologiques

La terminologie utilisée pour la rédaction des interprétations réalisées sur les rapports d'appréciation du Service de la Sécurité Alimentaire liés aux résultats d'analyses microbiologiques est la suivante.

Pour les matrices où il n'est pas renseigné de « n » et « c » pour l'échantillonnage, on peut prendre par défaut : n=5 et c=2.

5.4.1. Qualité microbiologique conforme : Le résultat analytique est inférieur à « m ».

5.4.2. Qualité microbiologique médiocre/acceptable : Pour un seul échantillon, le résultat analytique est supérieur à « m » sans dépasser « M ». Si $n > 1$, le nombre d'échantillon supérieur à « m » sans dépasser le « M » doit être inférieur ou égal à « c ». Le profil microbiologique de l'aliment se situe près des critères satisfaisants.

5.4.3. Qualité microbiologique insatisfaisante en regard des bonnes pratiques de fabrication : Principalement associés aux critères d'hygiène du procédé (CHP) ou d'altération dans les aliments prêts à consommer, cet énoncé s'applique lorsque le produit n'est pas encore altéré, mais que la valeur « c » ou « M » est dépassée. À ce moment, la signification se rattache aux mauvaises pratiques de fabrication et à une (des) situation(s) non contrôlée(s) de l'établissement.

Critères CHP : Germes aérobies mésophiles, bactéries lactiques, coliformes totaux, *Enterobacteriaceae*.

5.4.4. Qualité microbiologique non conforme : En présence des microorganismes indicateurs de santé 2, cette conclusion s'applique lorsque le résultat analytique est supérieur à « M » ou si le nombre d'échantillons de qualité médiocre est supérieur à « c ».

Critère de santé 2 : *E. coli*, *Staphylocoques coagulase positive*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*.

5.4.5. Qualité microbiologique inacceptable avec risque pour la santé humaine : La denrée alimentaire est considérée comme dangereuse.

Présence dans un aliment prêt à consommer, de microorganismes pathogènes primaires, de toxines microbiennes de santé 1 ou de microorganismes pathogènes de santé 2 à des concentrations correspondant aux doses infectantes ou toxigènes.

Exemple : Microorganismes pathogènes primaires :

Virus : *Norovirus*, hépatite A, *rotavirus*, etc.

Bactéries : *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* thermotolérants, *E. coli* O157 :H7, *Yersinia enterocolitica* (souches pathogènes), *Shigella*.

Toxines : Entérotoxines de *Staphylococcus aureus coagulase positive*, toxines de *Bacillus cereus* et de *Clostridium botulinum*, d'algues dans les produits marins, l'eau embouteillée, etc.

Protozoaires : *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia*, etc.

✓ **Les Micro-organismes pathogènes de santé 2 à des concentrations correspondant aux doses infectantes ou toxigènes = un niveau de risque de santé 1 :**

Staphylococcus aureus : $\geq 10^5$ UFC/g ou ml

Clostridium perfringens : $\geq 10^5$ UFC/g ou ml

Bacillus cereus : $\geq 10^5$ UFC/g ou ml

Vibrio parahaemolyticus : $\geq 10^6$ UFC/g ou ml

Dans le cadre d'un échantillonnage sélectif, si une denrée alimentaire est contaminée par plusieurs microorganismes, lors de l'interprétation, c'est le niveau « non-conforme » qui est prioritaire sur le niveau « médiocre » même si le microorganisme analysé médiocre est de santé 2 contre un microorganisme de critère d'hygiène pour le non conforme.

5.5. Choix du plan : Le plan à 3 classes est le plus souvent adopté ; la valeur de **m** est déterminée par les résultats de l'analyse de nombreux échantillons sur des lots jugés satisfaisants. La valeur de **M** est plus difficile à fixer et est fonction du produit, de la bactérie recherchée et de la méthode employée.

Les valeurs de **n** et **c** sont choisies en fonction du niveau souhaité d'acceptabilité ou de rejet des lots. Il est évident que plus **n** sera grand et plus **c** sera petit et meilleur sera le contrôle réalisé (Tableau 1).

Tableau 1. Choix des valeurs de **n** et **c** et du type de plan en fonction des risques sur la santé et les modalités d'utilisation du produit.

utilité ou risque	conditions prévisibles de manipulation et de consommation après échantillonnage, dans les conditions normales d'emploi		
	réduction du risque	pas d'influence sur le risque	augmentation du risque
pas de risque direct pour la santé. Utilité : vie commerciale	cas n°1 3 classes n = 5 c = 3	cas n°2 3 classes n = 5 c = 2	cas n°3 3 classes n = 5 c = 1
risque pour la santé	faible , indirect cas n°4 3 classes n = 5 c = 3	cas n°5 3 classes n = 5 c = 2	cas n°6 3 classes n = 5 c = 1
	moyen , direct diffusion limitée cas n°7 3 classes n = 5 c = 2	cas n°8 3 classes n = 5 c = 1	cas n°9 3 classes n = 10 c = 1
	moyen , direct large diffusion possible cas n° 10 2 classes n = 5 c = 0	cas n°11 2 classes n = 10 c = 0	cas n° 12 2 classes n = 20 c = 0
	sévère , direct cas n°13 2 classes n = 15 c = 0	cas n° 14 2 classes n = 30 c = 0	cas n° 15 2 classes n = 60 c = 0

Exemple d'application : contrôle de l'absence de *Salmonella* dans des laits en poudre.**Les caractéristiques de risque “produit” sont classées en :**

- a) produits contenant des ingrédients suspects ;
- b) pas d'application au produit de traitements antimicrobiens efficaces sur le germe considéré ;
- c) possibilité de croissance en cas d'erreur (composition du produit, pH, température, eau etc.)

A partir de ces caractéristiques 5 catégories d'aliments sont déterminables :

Catégorie I : aliments destinés aux enfants sujets malades ou déficients, vieillards

Catégorie II : aliments comportant les 3 catégories de risque

Catégorie III : aliments comportant 2 catégories de risque

Catégorie IV : aliments comportant 1 catégorie de risque

Catégorie V : aliment ne comportant aucune caractéristique de risque

Il est alors possible de définir un plan d'acceptation basé sur l'analyse d'échantillons unitaires de 25 grammes et sur les cas n° 13, 14 et 15 (Tableau I). Ce plan drastique est mis en œuvre pour le contrôle de ce type de produit destiné à l'exportation aux USA (Tableau 2).

Tableau 2. Plan d'échantillonnage pour *Salmonella* dans du lait en poudre.

catégorie du produit	nombre d'unités testées		signification : probabilité à 95 % qu'il n'y ait pas plus de 1 <i>Salmonella</i> dans
	0 positif	pas plus de 1 positif	
I	60 (1500 g)	95 (2375 g)	500 g
II	30 (750 g)	48 (1200 g)	250 g
III , IV , V	15 (375 g)	24 (600 g)	125 g