

10. Prélèvement de l'échantillon pour analyses

Les laboratoires chargés d'effectuer des contrôles sur les produits alimentaires sont tenus de respecter des consignes précises concernant le prélèvement des échantillons.

La réalisation des prélèvements d'échantillons d'une population donnée est décrite soit dans les normes spécifiques relatives à chaque aliment, et, dans ce cas, la technique de prélèvement est simple (exemple : algues alimentaires), soit dans des normes générales concernant les techniques de prélèvement adaptées à une catégorie de produits (exemple viande, conserves, lait...).

Les normes précisent le matériel nécessaire au prélèvement, le stockage et le transport dudit prélèvement, son étiquetage.

10.1. Méthodes de prélèvement des produits à base de lait

Ces méthodes se réfèrent à la norme AFNOR NF V 04 150.

10.1.1. Lait entier, partiellement ou totalement écrémé, aromatisé, fermenté, et crème

Le prélèvement peut aussi bien être réalisé sur une citerne de stockage de laits, sur un bidon de collecte, ou sur un récipient destiné au commerce de détail. Dans ce dernier cas, c'est le plus souvent le contenu des récipients entiers non ouverts qui constitue l'échantillon. La méthode est la suivante :

- bien mélanger les liquides en vrac. Au moyen du plongeur ou de l'agitateur (instruments destinés à l'homogénéisation ...), par agitation mécanique, ou à l'aide d'air comprimé propre, c'est-à-dire filtré. La taille des plongeurs est évidemment dépendante de la dimension des récipients contenant les laits en vrac.

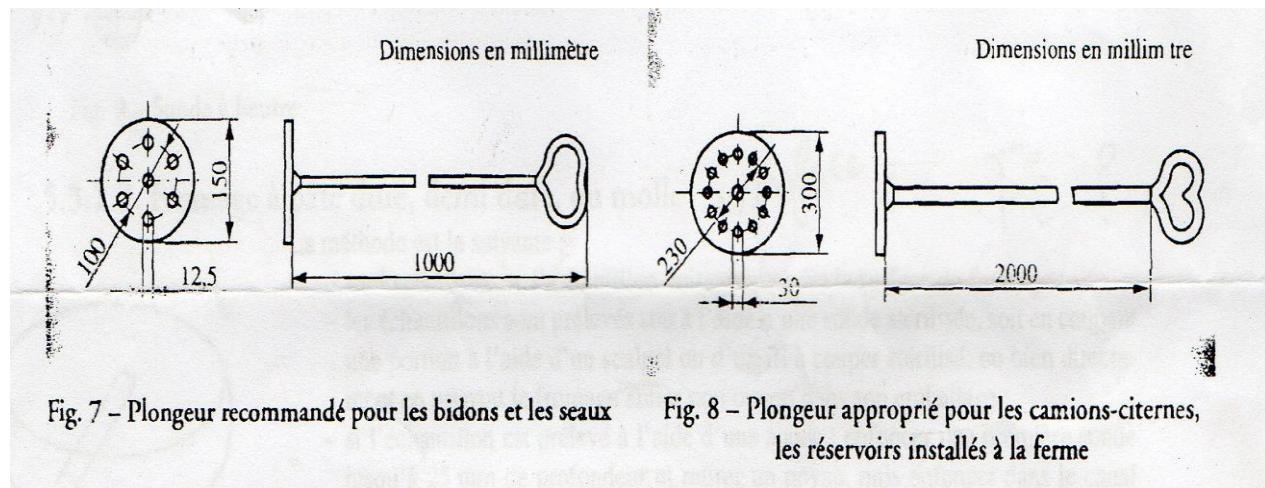


Fig. 7 – Plongeur recommandé pour les bidons et les seaux

Fig. 8 – Plongeur approprié pour les camions-citernes, les réservoirs installés à la ferme

- prélever l'échantillon à l'aide d'une louche ou d'un extracteur immédiatement après l'homogénéisation ; la dimension de l'échantillon ne doit pas être inférieure à 200mL ;

- l'équipement pour prélèvement doit être propre et stérilisé : soit à l'air chaud (170°C pendant 1heure), soit à la vapeur (121°C pendant 20minutes à l'autoclave), soit par immersion dans l'eau bouillante (1minute) ou dans l'éthanol à 70 % v/v ;

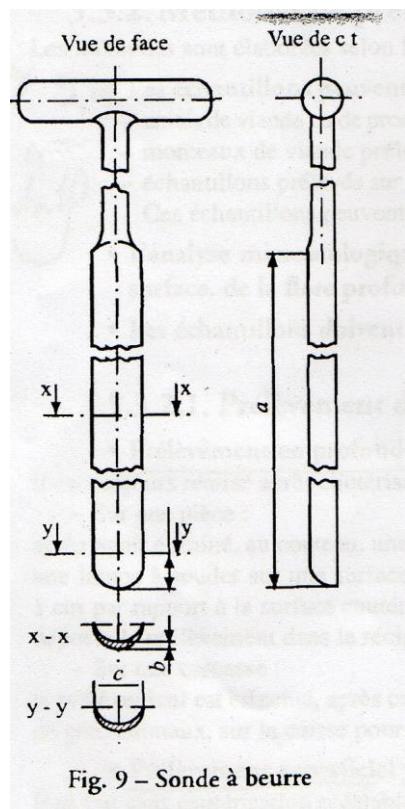
- les récipients destinés à recevoir les prélèvements sont en verre, matière plastique, ou certains métaux. Ils sont propres, secs et stériles ;

- la température de stockage doit être atteinte le plus rapidement possible après le prélèvement, et le délai entre prélèvement et analyse doit être le plus bref possible (de préférence inférieur à 24h) (Tableau 1).

Tableau 1. Conditions de conservation de l'échantillon et quantité minimale

Produit	Température de stockage avant et durant le transport	Quantité minimale de prélèvement élémentaire
Lait non stérilisé	0 à 4°C	200mL
Lait stérilisé, UHT en récipients non ouverts	Température ambiante (25°C au maximum)	200mL
Glace de consommation et produits congelés à base de lait	- 18°C	100 ou 200g
Lait sec	Température ambiante (25°C au maximum)	100 ou 200 g
Beurre	0 à 4°C à l'obscurité	100g ou 250g ou 2kg
Fromage	0 à 4 °C	100 ou 200g

10.1.2. Beurre



La méthode est la suivante :

- prélever à partir du produit en vrac ou à partir d'un emballage contenant au moins 1kg de produit, après avoir, si nécessaire, maintenu le produit à une température de 8°C environ pour qu'il ait atteint une fermeté permettant son prélèvement.

Dans le cas d'un emballage de moins de 1kg, c'est l'emballage dans son entier et non ouvert qui constitue l'échantillon ;

- enlever, à l'aide d'une spatule stérilisée, la couche de surface de la zone d'échantillonnage sur une épaisseur ne dépassant pas 5mm ;

- enfoncez la sonde stérilisée en diagonale dans le produit, sans qu'elle atteigne la surface opposée ; faire pivoter la sonde d'un tour complet et la retirer : elle contient le noyau ;

- verser le noyau dans un récipient stérile pour échantillon.

10.1.3. Fromage à pâte dure, demi dure, ou molle

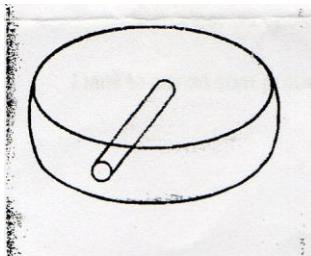


Fig. 10 – Échantillonnage de fromages à l'aide d'une sonde (cas d'un fromage cylindrique)

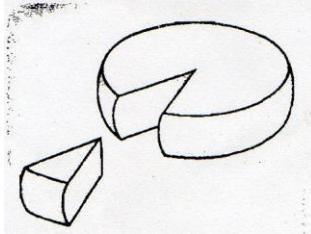


Fig. 11 – Échantillonnage de fromages par prélèvement d'une portion

La méthode est la suivante :

- sauf spécification, l'échantillon doit comprendre la surface du fromage ;
- les échantillons sont prélevés soit à l'aide d'une sonde stérilisée, soit en coupant une portion à l'aide d'un scalpel ou d'un fil à couper stérilisé, ou bien directement en prenant le fromager entier non ouvert dans son emballage ;
- si l'échantillon est prélevé à l'aide d'une sonde : enfoncez une première sonde jusqu'à 25mm de profondeur et retirer un noyau, puis enfoncez dans le canal réalisé une seconde sonde de diamètre inférieur, la faire pivoter et retirer le noyau ;
- transférer ce noyau dans le récipient prévu pour l'échantillon, et recommencer jusqu'à obtention de la quantité.
- L'échantillon peut être réalisé par prélèvement d'un morceau.

10.2. Méthodes de prélèvement de la viande et des produits à base de viande

Les méthodes sont élaborées selon la norme AFNOR NF V 04 501.

- **Les échantillons peuvent appartenir à différentes catégories :**
 - unités de viande ou de produits à base de viande, préparés ou conditionnés (bocal, barquette sous film plastique) ;
 - morceaux de viande prélevés dans une unité de masse inférieure à 2kg ;
 - échantillons prélevés sur des unités de masse supérieure à 2kg ;
Ces échantillons peuvent être réfrigérés (4°C), congelés (-18°C) ou surgelés (-180°C), en l'état ou partiellement déshydratés.
 - L'analyse microbiologique peut avoir pour but la recherche et/ou le dénombrement de la flore de surface, de la flore profonde ou des deux.
 - Les échantillons doivent être manipulés dans des conditions d'aseptie.

10.2.1. Prélèvement d'un échantillon réfrigéré

- **Prélèvement en profondeur**

Il est toujours réalisé après cautérisation de la surface.

✓ Sur une pièce :

Après avoir éliminé, au couteau, une pellicule superficielle de 2mm d'épaisseur, cautériser la partie superficielle avec une lampe à souder sur une surface d'environ 25cm² ; éliminer la pellicule carbonisée sur une surface en retrait de 1cm par rapport à la surface cautérisée. Prélever en profondeur en utilisant un outil approprié (pinces, bistouri, ...) et déposer le prélèvement dans le récipient pour échantillon.

✓ **Sur une carcasse :**

Le prélèvement est effectué, après cautérisation de la partie superficielle, sur des muscles pectoraux pour les carcasses de gros animaux, sur la cuisse pour les petits animaux.

• **Prélèvement superficiel**

Il se fait sans cautérisation préalable.

- Appliquer un cadre qui permet de délimiter un carré de surface déterminée (exemple : 25cm²).
- À l'aide d'un bistouri, inciser la viande en suivant le périmètre extérieur de la surface déterminée et dégager un lambeau superficiel de 2 à 3 mm d'épaisseur.
- S'il n'est pas possible d'appliquer un cadre, la surface de prélèvement est délimitée au bistouri.

Dans le cas où sont pratiqués à la fois un prélèvement de surface et un prélèvement en profondeur, il n'y a pas de cautérisation.

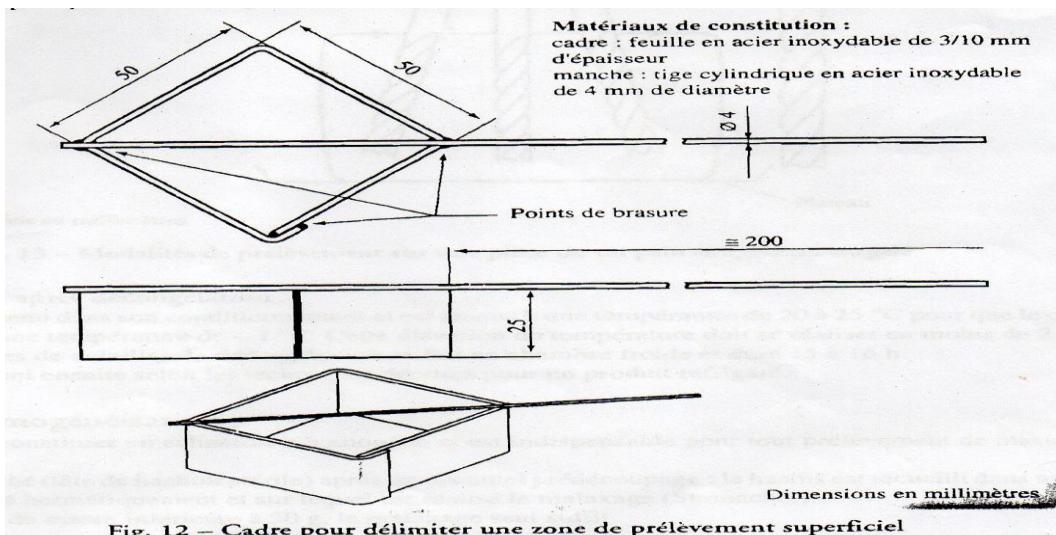


Fig. 12 – Cadre pour délimiter une zone de prélèvement superficiel

10.2.2. Prélèvement d'un échantillon congelé ou surgelé

• **Prélèvement sans décongélation**

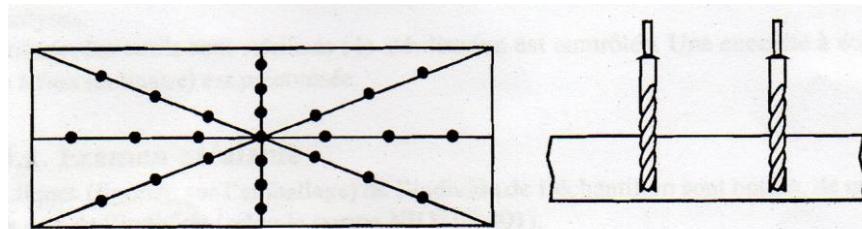
Les pièces de volume important sont perforées en un certain nombre de points à la perceuse électrique. Les copeaux obtenus sont recueillis à l'aide d'une spatule et placés dans le récipient pour prélèvement. Si seul le prélèvement en profondeur est demandé, un lambeau superficiel de 3mm d'épaisseur est dégagé au ciseau à bois sur une surface d'environ 30cm² ; la surface dégagée est cautérisée et le prélèvement en profondeur s'effectue comme précisé ci-dessus.

Si en revanche, seul le prélèvement superficiel est demandé, une surface est délimitée, elle n'est pas cautérisée, et, au moyen du ciseau à bois, un lambeau superficiel de 3mm d'épaisseur est dégagé.

A. Cas d'un pain non homogène

(Morceaux comprimés agglomérés, congelés ou surgelés – masse : 25kg à 30kg)

Points de perforation : prélèvement global



B. Cas d'une pièce homogène

Points et limites des perforations pour un prélèvement en profondeur

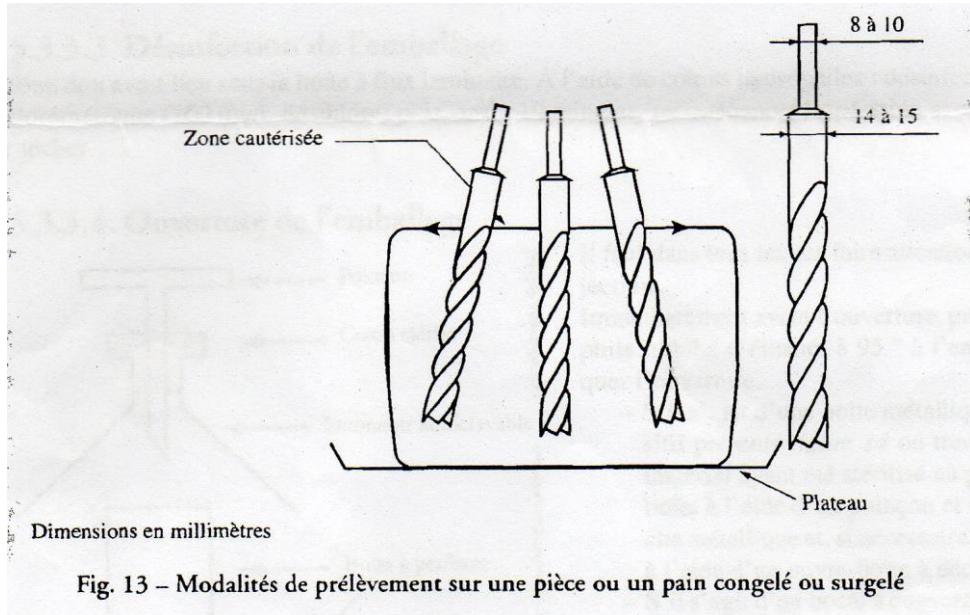


Fig. 13 – Modalités de prélèvement sur une pièce ou un pain congelé ou surgelé

• Prélèvement après décongélation

L'échantillon est maintenu dans son conditionnement et est amené à une température de 20 à 25°C pour que le cœur de l'échantillon atteigne une température de -1°C. Cette élévation de température doit se réaliser en moins de 2 à 3h.

Dans le cas de carcasses de volailles, la décongélation se fait en chambre froide et dure 15 à 16h. Les prélèvements se font ensuite selon les techniques décrites pour un produit réfrigéré.

10.2.3. Homogénéisation

Elle est réalisée pour constituer un échantillon homogène et est indispensable pour tout prélèvement de masse supérieure ou égale à 50g.

Le prélèvement est haché (tête de hachoir stérile) après un éventuel pré-découpage ; le hachis est recueilli dans un sac en plastique, qui est fermé hermétiquement et sur lequel est réalisé le malaxage (Stomacher).

Pour les prélèvements de masse inférieure à 50g, le malaxage seul suffit.

10.3. Méthodes de prélèvement aseptique des conserves

Ces méthodes sont élaborées selon la norme AFNOR NF V 08 403.

Les conserves peuvent se présenter sous différents emballages : boîtes métalliques, bocaux en verre, barquettes, sachets...

La conserve est un produit biologiquement stable sur lequel on peut être amené à effectuer des analyses lorsqu'on recherche des causes de défauts de fabrication, ou au cours d'enquêtes menées lors de TIAC.

Les analyses doivent être conduites en aseptie. Malgré cette condition, la proportion de contamination exogène (« faux positifs ») est supérieure à 1% du nombre de prélèvements élémentaires, ce qui se trouve être supérieur au % d'individus non conformes (de l'échantillon) considéré comme acceptable (généralement < 1%).

Les analyses menées sur les conserves donnent des résultats « tout ou rien » : un résultat positif indique la présence de microorganismes, un résultat négatif, l'absence de microorganisme ; tout résultat positif est, de ce fait, entaché de suspicion.

Il est donc indispensable de réduire au maximum les risques de contamination exogène, que ce soit lors du prélèvement ou lors des analyses.

La verrerie utilisée, les outils sont stérilisés ; la stérilisation est contrôlée. Une enceinte à écoulement d'air unidirectionnel (hotte à flux laminaire) est préconisée.

10.3.1. Examen préalable

Les caractéristiques (figurant sur l'emballage) de l'individu de l'échantillon sont notées, de même qu'est noté l'aspect « normal » ou non de l'individu (selon la norme NF V 08 401).

10.3.2. Nettoyage de l'emballage

Le récipient est brossé avec une solution de détergent dans le cas de boîtes métalliques ou de bocaux. Les sertis et les joints sont nettoyés avec attention. Le séchage est effectué à l'aide de papier absorbant.

10.3.3. Désinfection de l'emballage

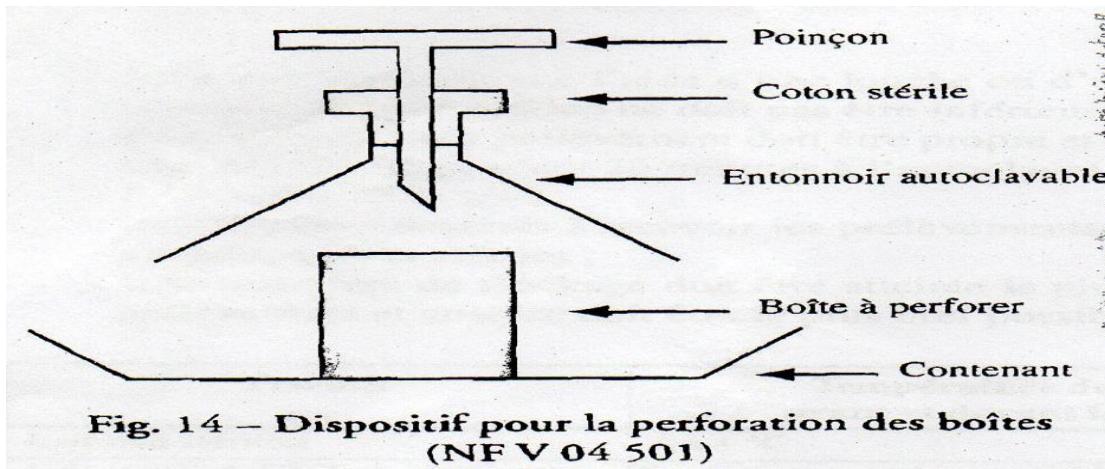
L'opération doit avoir lieu sous la hotte à flux laminaire. À l'aide de cotons hydrophiles : désinfecter à l'eau de Javel à 1,2° chlorométrique (100mg/L de chlore) puis, après 10 minutes, recommencer l'opération avec de l'éthanol à 95°. Laisser sécher.

10.3.4. Ouverture de l'emballage

Il faut dans tous les cas faire attention aux risques de projection.

Immédiatement avant l'ouverture, passer un coton hydrophile imbibé d'éthanol à 95° à l'endroit où va se pratiquer l'ouverture.

- S'il s'agit d'une boîte métallique : utiliser le dispositif présenté (figure 14) ou travailler sous hotte. Le matériel ayant été stérilisé au préalable, perforez la boîte à l'aide d'un poinçon et d'un marteau à manche métallique et, si nécessaire, agrandir l'ouverture à l'aide d'un ouvre-boîte à découpe circulaire.
- S'il s'agit d'un bocal à couvercle en verre avec joint de caoutchouc : ouvrir « normalement ».



10.3.5. Prélèvement du contenu

Le matériel utilisé dépend de la nature liquide ou solide du produit. Si le produit est mixte (liquide et solide), prélever dans les deux phases. Placer le prélèvement dans un flacon stérile et conserver à 4 °C jusqu'à l'analyse. Procéder à une homogénéisation si nécessaire.

10.3.6. Matériel d'échantillonnage

L'échantillonnage d'ingrédients ou d'aliments en vrac est pratiqué en utilisant une pelle à main spécialement conçue pour l'exercice. Ce dispositif est formé d'une coupelle fixée au bout d'un manche de 50 à 100 centimètres. La capacité de la coupelle doit être de 50 à 200 grammes. Trois types de pelles à main sont disponibles selon le cas pour échantillonner un ingrédient ou un aliment en vrac (Figure 1).

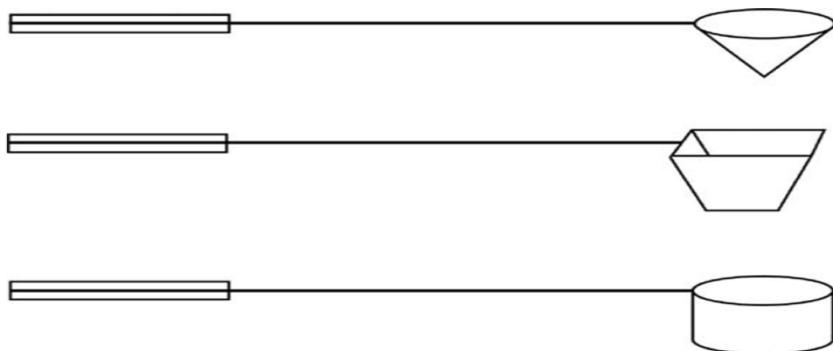


Figure 1. Types de grande pelle et pelles à main disponibles pour échantillonner un ingrédient ou un aliment en vrac.

L'échantillonnage d'ingrédients ou d'aliments emballés est pratiqué en utilisant une sonde spécialement conçue pour l'exercice. Deux sondes sont disponibles, selon le cas, pour échantillonner un ingrédient ou un aliment emballé, soit :

1. La sonde à double tube qui peut s'utiliser à l'horizontale ou à la verticale. Ce type de sonde présente un risque de contamination plus élevé. Il faut prendre soin que l'ensemble des ouvertures des tubes intérieurs et extérieurs soit propre et qu'aucune particule ne soit logée entre les tubes. La totalité du contenu du tube interne représente un échantillon primaire. Lorsqu'utilisée à l'horizontale, la sonde doit atteindre le côté opposé de l'emballage. Lorsqu'utilisée à la verticale, la sonde doit être suffisamment longue pour atteindre le fond de l'emballage (Figure 2).



Figure 2. Sonde à double tube (sonde cylindrique).

2. La sonde Nobbe ne peut s'utiliser qu'à l'horizontale. Ce type de sonde présente peu de risques de contamination. Elle doit pouvoir atteindre le centre de l'emballage et son utilisation est limitée aux emballages dans lesquels elle peut être plongée (Figure 3).



Figure 3. Sonde Nobbe (sonde cylindrique)

La figure suivante représente l'échantillonneur de fond ou à soupape (Figure 4).



Figure 4. (d) (e) échantillonneur de fond ou à soupape.