



Pas de classification

Le traitement de la partie pré-analytique des analyses microbiologiques dans le domaine de la production de denrées alimentaires

Document no. 333.fw

TABLE DES MATIERES

1	Introduction	4
2	Prélèvement d'échantillon	4
2.1	Plans d'échantillonnage	4
2.1.1	Aspects légaux	4
2.1.2	Aspects techniques	5
2.1.2.1	Généralités	5
2.1.2.2	Planification selon le nombre de classes	5
2.1.2.2.1	Planification à 2 classes	5
2.1.2.2.2	Planification à 3 classes	5
2.1.2.3	Paramètres des planifications selon les classes [7]	5
2.1.2.4	Élaboration d'un plan d'échantillonnage	6
2.1.2.5	Exemples de plans d'échantillonnage	6
2.1.2.5.1	Denrées alimentaires prêtes à être consommées favorisant le développement de <i>Listeria monocytogenes</i> (Critère de sécurité des denrées alimentaires, OHyg, Annexe 1 Partie 1 Point 1.2)	6
2.1.2.5.2	Cronobacter spp. dans des aliments pour nourrissons (Critère de sécurité des denrées alimentaires, OHyg, Annexe 1 Partie 1 Point 1.24)	6
2.1.2.5.3	Staphylocoques à coagulase positive dans des fromages au lait cru (Critère de sécurité des denrées alimentaires, OHyg, Annexe 1 Partie 2 Point 2.2.3)	6
2.1.2.6	Déviations du plan d'échantillonnage	7
2.2	Appareils et accessoires	7
2.3	Technique de prélèvement	7
2.3.1	Objectifs de la prise d'échantillons	7
2.3.2	Techniques de prélèvement isolé	7
2.3.3	Quantité de matériel à prélever	8
2.3.4	Stabilisation de l'échantillon	8
2.3.5	Identification et rapport d'échantillonnage	8
3	Transport, envoi, réception et entreposage des échantillons	8
3.1	Aspects juridiques	9
3.2	Lignes directrices techniques existantes	9
3.3	Transport d'échantillons	9
3.3.1	Exigences générales	9
3.3.2	Exigences concernant l'équipement des véhicules transportant les échantillons	9
3.4	Envoi des échantillons	10
3.5	Réception des échantillons et première évaluation	10
3.6	Entreposage des échantillons	10
4	Préparation pour l'analyse	11
4.1	Fractionnement des échantillons	11
4.2	Prélèvement de l'échantillon d'analyse	11
4.3	Préparation de la suspension initiale	11
5	Littérature	12
6	Adaptations de la version actuelle	13

Préface

Le document a été rédigé la première fois par un groupe d'expertes et d'experts de la Confédération, des laboratoires cantonaux et du secteur privé sous la direction du SAS et publié en version originale dans le journal « Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène » (Mitt. Lebensm. Hyg. 97, 2006).

Le domaine d'application couvre la partie préanalytique pour les échantillons suivants de denrées alimentaires, objets usuels, aliments pour animaux, échantillons de l'environnement dans le secteur de la production et de l'utilisation de denrées alimentaires, échantillons de l'environnement dans le secteur de la production primaire et des fèces d'animaux.

Le fait que les personnes engagées pour l'échantillonnage soient formées dans leur domaine, qu'elles connaissent les déroulements et les points critiques de leur activité, est une exigence préliminaire et ne fait pas partie de ce document.

Un guide de l'UE [1] fournit des indications sur les questions pré-analytiques. Le présent document donne toutefois un aperçu plus vaste à cette thématique et prend aussi en considération les caractéristiques nationales.

Le document s'adresse surtout à des responsables d'évaluation et aux expertes et experts techniques du Service d'Accréditation Suisse SAS comme aide lors de l'évaluation des laboratoires d'essai et aux laboratoires concernés par l'application des exigences préanalytiques.

Les termes "essai" et "analyse" doivent être considérés comme équivalents dans le texte.

Les spécifications "obligatoires", qui sont exigées par la loi ou qui découlent directement ou indirectement de la norme ISO/CEI 17025 sont formulées en conséquence (doivent, devraient, sont/sont à, etc.). Le terme "devrait" est utilisé dans le présent document pour désigner les moyens reconnus de satisfaire aux exigences.

Auteurs (par ordre alphabétique):

A. Baumgartner¹, T. Bischofsberger², M. Dalla Torre³, H. Emch⁴, J.-L. Gafner⁵, J. Hummerjohann⁵, R. Meyer⁶, Ch. Müller⁷, P. Scheffeldt⁴, U. Spahr¹, R. Stephan⁸, U. Wäspi⁹

¹Bundesamt für Gesundheit, 3003 Bern

²UFAG Laboratorien AG, 6310 Sursee

³Sälimrain 32, 4500 Solothurn

⁴Schweizerische Akkreditierungsstelle SAS, 3003 Bern

⁵Agroscope Liebefeld-Posieux, 1725 Posieux

⁶NESTEC SA., 1350 Orbe

⁷Amt für Verbraucherschutz, 5000 Aarau

⁸Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, 8057 Zürich

⁹COOP Zentrallabor, 4133 Pratteln

Version 02:

C. Fricker-Feer, HOCHDORF Swiss Nutrition Ltd., 6281 Hochdorf

J. Hummerjohann, Agroscope Liebefeld, 3003 Bern

R. Meyer, Nestlé Research Konolfingen, 3510 Konolfingen

Ch. Müller, Amt für Verbraucherschutz, 5000 Aarau

S. Losio, Dienststelle Lebensmittelkontrolle und Verbraucherschutz, 6002 Luzern

B. Plaschy, Schweizerische Akkreditierungsstelle, 3003 Bern

1 Introduction

Ces dernières années, des études intensives se sont consacrées à la validation et l'estimation de l'incertitude de mesure dans le domaine des méthodes d'analyses microbiologiques. Dans ce contexte, un document correspondant à ces chapitres a été publié en 2005 pour le domaine de la microbiologie alimentaire et de l'environnement (Document SAS 328), sans toutefois considérer la partie pré-analytique.

Avec une offre croissante de tests d'aptitude (études comparatives de laboratoires) et de matériaux de référence, la réalisation d'une analytique fiable et de bonne traçabilité devrait être réalisable. Malgré cela, on trouve toujours et encore de grandes divergences entre les résultats de différents laboratoires ou des écarts significatifs par rapport aux valeurs cibles des matériaux de référence.

La partie pré-analytique demeure un point faible à cet égard. La plus grande source d'erreur, qui est dans la plupart des cas sous-estimée, réside dans le processus d'échantillonnage. Les étapes parfois très complexes entre la prise de l'échantillon sur place et la pesée de l'échantillon au laboratoire, ne sont pas communiquées suffisamment en détail au laboratoire. Les connaissances nécessaires sur les facteurs d'influence et les caractéristiques de l'échantillon à examiner font défaut. Il est indispensable que les échantillons à analyser soient prélevés, transportés et préparés pour l'analyse de telle manière qu'ils soient constamment représentatifs de l'ensemble du produit à tester (lot de marchandise).

Le type d'échantillonnage, en particulier la quantité d'échantillon, est essentiellement déterminé par les objectifs de l'analyse. Selon l'objectif de l'analyse, différentes approches peuvent être nécessaires.

La partie pré-analytique des analyses peut se diviser selon les 3 étapes suivantes :

- Prise d'échantillon
- Transport et entreposage
- Préparation pour l'analyse microbiologique

2 Prélèvement d'échantillon

En principe il faut procéder de manière à préserver le statut microbiologique de l'échantillon autant que possible.

2.1 Plans d'échantillonnage

2.1.1 Aspects légaux

Les dispositions relatives à l'échantillonnage dans les entreprises du secteur alimentaire figurent dans l'ordonnance sur les denrées alimentaires objets usuels ([2] au chapitre 4: Autocontrôle, section 5: prélèvement d'échantillons et analyses ainsi qu'au chapitre 5: Importation, transit et exportation de denrées alimentaires et objets usuels, section 2: denrées alimentaires soumises à des contrôles renforcés à l'importation.

Dans le cadre de l'autocontrôle, la personne responsable d'une entreprise alimentaire doit satisfaire aux exigences du chapitre 7 de l'ordonnance sur l'hygiène dans les activités liées aux denrées alimentaires [3]: Dispositions spécifiques concernant l'analyse et l'échantillonnage microbiologiques.

Les dispositions relatives à l'échantillonnage se trouvent dans les ordonnances correspondantes. Pour l'autorité d'exécution, les dispositions de l'ordonnance d'exécution [4] s'appliquent.

2.1.2 Aspects techniques

2.1.2.1 Généralités

L'analyse microbiologique occupe dans les domaines des denrées alimentaires, des objets usuels, des aliments pour animaux et des prélèvements environnementaux, une place importante dans le contexte général du système de sécurité, que ce soit vérifier la qualité des matières premières, l'hygiène des processus ou contrôler et libérer les produits finis (vérifications).

Pour un lot de marchandise, la validité de l'analyse et les conclusions que l'on peut en tirer dépendent clairement du nombre d'échantillons examinés. Plus le nombre d'échantillons analysés par unité est élevé, plus il est probable que des germes indésirables soient détectés.

Le nombre d'échantillons devant être analysés dépend entre autres de la taille d'un lot à tester, de son homogénéité et de la fréquence des paramètres à déterminer. Dans ce domaine, les travaux et recommandations de l' "International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF)" [5] font figure de pionniers. La norme ISO 2859 est aussi fréquemment utilisée [6].

Il est parfois d'usage que les échantillons soient regroupés ("pool"). Par exemple, pour les tests bactériologiques des carcasses, les échantillons prélevés aux différents points de la carcasse sont regroupés et soumis à un seul test microbiologique [3, 8, 19].

2.1.2.2 Planification selon le nombre de classes

2.1.2.2.1 Planification à 2 classes

Dans une planification à 2 classes, l'application concerne la plupart du temps les analyses de présence/absence dans une certaine quantité de matériel à examiner. On l'utilise dans la détection de pathogènes comme par exemple les salmonelles.

2.1.2.2.2 Planification à 3 classes

Dans les planifications à 3 classes, on applique des méthodes quantitatives, dans lesquelles on se base sur un nombre acceptable ou limite de micro-organismes exprimé par unité de quantité. Dans ces cas, seul un nombre donné d'échantillons peut atteindre la valeur limite sans la dépasser. Ces méthodes sont notamment utilisées pour évaluer l'hygiène des procédés.

2.1.2.3 Paramètres des planifications selon les classes [7]

k : classe

n : nombre d'échantillons à prélever et à analyser par lot de marchandise [ou conformément à l'ordonnance sur l'hygiène du DFI (5)] nombre d'unités d'échantillons élémentaires de l'échantillon)

m : nombre de micro-organismes acceptables par gramme ou par millilitre

M : nombre limite de micro-organismes permis par gramme ou par millilitre

c : planification à 2 classes : nombre le plus élevé d'échantillons dans lesquels « m » peut être dépassé
planification à 3 classes: nombre le plus élevé d'échantillons dans lesquels « m » peut être dépassé, mais dans lesquels le « M » ne peut pas être dépassé.

En ce qui concerne les critères de sécurité alimentaire, la règle $m = M$ est généralement appliquée, cette limite ne peut être dépassée et s'applique aux produits disponibles dans le commerce.

Pour les critères d'hygiène des procédés, la règle $m \neq M$ et $c \neq 0$ [3] s'appliquent généralement. Ces paramètres s'appliquent aux produits finis.

Si les critères de sécurité alimentaire et d'hygiène des processus sont dépassés, des mesures doivent être prises conformément à l'article 71 de l'OHyg.

2.1.2.4 Élaboration d'un plan d'échantillonnage

Lors de l'élaboration d'un plan d'échantillonnage, les aspects microbiologiques, épidémiologiques, médicales et statistiques doivent être considérés. De cette manière, on prend en compte les risques provenant des produits alimentaires à contrôler et la composition du groupe cible de consommateurs. La criticité du danger que représente un micro-organisme à exclure est aussi un facteur à prendre en compte. Selon le niveau de risque, 5, 10, 15, 20, 30 ou 60 analyses en parallèle doivent être effectuées. De plus amples explications ne sont pas fournies dans ce document, mais on peut se référer à la vaste littérature spécialisée, en particulier aux travaux de normalisation de l'ICMSF [5].

2.1.2.5 Exemples de plans d'échantillonnage

Les plans suivants répondent aux exigences de l'ordonnance sur l'hygiène [3]. Conformément à l'art. 67 OHyg, les plans d'échantillonnage énumérés à l'annexe 1 OHyg doivent être respectés pour évaluer spécifiquement l'acceptabilité d'un lot de denrées alimentaires ou d'un procédé particulier.

2.1.2.5.1 Denrées alimentaires prêtes à être consommées favorisant le développement de *Listeria monocytogenes* (Critère de sécurité des denrées alimentaires, OHyg, Annexe 1 Partie 1 Point 1.2)

$n = 5 / c = 0 / m = M = 100$ UFC (unité formant colonie) par gramme (s'applique aux produits mis sur le marché si la personne responsable peut prouver à la satisfaction de l'autorité d'exécution compétente que le produit ne dépasse pas 100 UFC/g pendant toute la durée de conservation du produit);

$m = M = nd$ (non détectable) / 25g (valable pour la période avant que l'aliment ne soit plus sous le contrôle direct du fabricant)

Pour les analyses correspondantes, 5 échantillons doivent être pris en compte par lot de marchandise. Etant donné que seul "M" a été déterminé et que "c" est zéro, aucun de ces échantillons ne doit dépasser 100 UFC/g de *L. monocytogenes*. Dans cet exemple, il s'agit d'une planification à 2 classes ($k=2$) avec une méthode quantitative ou qualitative (suivant la période de mesure).

2.1.2.5.2 Cronobacter spp. dans des aliments pour nourrissons (Critère de sécurité des denrées alimentaires, OHyg, Annexe 1 Partie 1 Point 1.24)

$n = 30 / c = 0 / m = M = \text{non détectable}$ dans 10 grammes

Pour les analyses correspondantes, 30 échantillons doivent être examinés par lot de marchandise. Etant donné que seul "M" a été déterminé et que "c" est zéro, *Cronobacter spp.* ne doit être détectable dans aucun des 30 échantillons. Dans ce cas, il s'agit d'une planification à 2 classes ($k=2$) combinée avec un test d'absence ou de présence. Le nombre élevé d'échantillons de 30 ("n") est en rapport avec les personnes très sensibles comme par exemple les nourrissons qui doivent être protégées.

2.1.2.5.3 Staphylocoques à coagulase positive dans des fromages au lait cru (Critère de sécurité des denrées alimentaires, OHyg, Annexe 1 Partie 2 Point 2.2.3)

$n = 5 / c = 2 / m = 10\,000$ UFC/g / $M = 100\,000$ UFC/g

Pour ces produits, 5 échantillons doivent être analysés par lot de marchandise. Deux d'entre eux peuvent dépasser 10 000 UFC/g ("m"), mais aucun ne doit dépasser 100 000 UFC/g ("M"). Il s'agit ici d'une planification à 3 classes ($k=3$) avec une méthode quantitative. Si le résultat est $> 10^5$ UFC / g, le lot doit être analysé pour déterminer la présence d'entérotoxine staphylococcique.

2.1.2.6 Déviation du plan d'échantillonnage

Les essais selon les plans d'échantillonnage peuvent prendre beaucoup de temps, surtout si le nombre d'échantillons à examiner ("n") est élevé. Les écarts éventuels par rapport aux plans d'échantillonnage et à la fréquence des analyses sont énumérés dans l'ordonnance sur l'hygiène (art. 67 et 68).

2.2 Appareils et accessoires

Des équipements et des ustensiles adéquats sont utilisés pour permettre ou faciliter un échantillonnage correct. Les ustensiles de prélèvement comme les cuillères, les louches, les sondes, les cylindres, les forets, les pipettes, les mesureurs, les cisailles, les brucelles, les grattoirs, les agitateurs, etc. doivent être propres, stériles et secs. Ils doivent être transportés dans des emballages stériles et étanches aux contaminations (p. ex. [8], [9], [10], [11], [12]). Les écouvillons, les tiges de coton et analogues peuvent, si nécessaire, être humectés avec un volume défini de liquide stérile.

Les récipients d'échantillons en verre, en matière synthétique ou en métal doivent être stériles et exempts de substances ayant un effet inhibiteur sur les analytes, ou pouvant entraîner une dilution indésirable. Ils doivent pouvoir se fermer de telle manière qu'aucune contamination ne puisse se produire et qu'aucune perte d'échantillon ne soit possible.

2.3 Technique de prélèvement

Le statut microbiologique d'un aliment change lors de la fabrication, de l'entreposage, de l'emballage, du transport et de la distribution au consommateur. Les échantillons doivent être prélevés et conservés de telle manière que l'état microbiologique ne puisse pas être faussé (voir par exemple la littérature [12], [13], [14], [15]).

De ce principe important découlent les recommandations particulières pour les techniques de prélèvement décrites dans ce chapitre.

2.3.1 Objectifs de la prise d'échantillons

Le choix du matériel même de l'échantillon et le moment du prélèvement dépendent fortement de l'objectif de l'analyse. Il convient de préciser s'il s'agit

- du contrôle officiel des denrées alimentaires,
- de la surveillance d'exploitations privées dans le cadre d'un autocontrôle,
- d'une surveillance des procédés (monitoring)
- d'une clarification lors de cas de maladie

Selon les cas, des plans d'échantillonnage différents sont mis en œuvre (voir chap. 2.1).

2.3.2 Techniques de prélèvement isolé

En règle générale, il faut prévoir un prélèvement aseptique. Toutefois dans le cas de vente directe de certaines marchandises, il peut s'avérer nécessaire d'utiliser les ustensiles de l'exploitation (par exemple : louches à glaces), si on veut savoir "comment le consommateur reçoit la denrée alimentaire".

Il n'est pas possible ici de mentionner toutes les techniques de prélèvement. En plus de la littérature spécialisée (p. ex. [16]), la consultation des normes internationales telles que ISO 17604:2015 [8], ISO 18593:2018 [17] et ISO 707 IDF 50 [15] est recommandée. Ces normes décrivent les instruments de prélèvement et leur utilisation comme par exemple l'emporte-pièce pour fromages, les méthodes de prélèvements destructives et non-destructives, le choix des points de prélèvement (p. ex. sur les carcasses à l'abattoir [19]).

Les principes de base importants pour les prélèvements sont :

- La prise d'échantillon pour la microbiologie a toujours lieu avant celle destinée aux examens chimiques ou autres.

- Lors de la prise d'échantillon aseptique, il faut éviter les contaminations de l'échantillon causées par un emballage défectueux, par une ouverture incorrecte des récipients ou par des ustensiles de prélèvement et des récipients contaminés, ces derniers pouvant être souillés par les mains; de même, les contaminations par voie aérienne doivent être évitées.
- Durant le prélèvement, le nombre de micro-organismes présents ne doit pas être réduit, p. ex. par l'évaporation incomplète d'éthanol, ou par la chaleur de l'outil de prélèvement insuffisamment refroidi après son passage à la flamme.
- Lors de méthodes invasives, selon le problème posé, il peut s'avérer nécessaire d'écarter la couche superficielle du produit, de façon stérile, avant le prélèvement effectif.

2.3.3 Quantité de matériel à prélever

La quantité d'échantillon à prélever dépend de l'objectif de l'analyse, mais devrait être en règle générale au minimum de 100 g. La quantité d'échantillon de surface (p. ex. croûte de fromage) peut être inférieure à 100 g [15]. Dans tous les cas, il faut considérer particulièrement l'homogénéité de l'échantillon et effectuer les prélèvements en conséquence. Des produits emballés devraient si possible être prélevés dans leur emballage original et pour une marchandise en vrac, il faut réaliser un échantillon mixte de plusieurs portions de 10 à 50 g.

Dans le cas de prélèvements non-destructifs, une surface de 100 cm² au moins doit être prélevée.

Dans la mesure du possible, il faut prélever les échantillons inhomogènes en entier (p. ex. millefeuilles).

2.3.4 Stabilisation de l'échantillon

Les échantillons doivent être prélevés et conservés d'une telle manière que leur état microbiologique ne puisse pas être dégradé.

En règle générale, aucun agent stabilisateur ou de conservation ne peut être ajouté aux échantillons destinés à l'analyse microbiologique. Si l'adjonction de ces substances est malgré tout pratiquée (p. ex. exigée par le laboratoire), il faut alors s'assurer que leurs propriétés ne perturbent pas l'analyse ultérieure. L'utilisation et la quantité de l'agent stabilisateur ajouté doivent figurer dans le rapport de prélèvement.

Dans le cas de l'eau potable, toute quantité inhibitrice de chlore doit être inactivée par du thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃). Pour ce faire, une solution stérile de thiosulfate de sodium est ajoutée aux flacons de prélèvement [11]. La congélation de l'échantillon avant l'analyse n'est autorisée que si des études représentatives antérieures ont montré qu'il n'y a pas de changement significatif des résultats des paramètres à tester [14].

La congélation de l'échantillon jusqu'au moment de l'analyse n'est autorisée que si des essais préliminaires ont montré de manière représentative et convaincante qu'aucun changement significatif des paramètres à mesurer n'a lieu.

2.3.5 Identification et rapport d'échantillonnage

Immédiatement après son prélèvement, chaque échantillon doit être identifié clairement et sans ambiguïté. Il existe des exigences contraignantes quant à ce qui doit être documenté dans un rapport d'échantillonnage (voir [4], [13]).

3 Transport, envoi, réception et entreposage des échantillons

L'objectif fixé est de transporter et d'entreposer les échantillons de telle manière que les résultats d'analyses ne soient pas, dans la mesure du possible, faussés. Si les échantillons sont transportés réfrigérés ou congelés, il faut s'assurer que ceux-ci n'entrent pas en contact direct avec les éléments de refroidissement ou avec la neige carbonique. Ils doivent être

analysés aussi rapidement que possible. Sauf dans le cas de la détermination de la durée limite de conservation, durant laquelle, les échantillons sont stockés dans des conditions définies jusqu'à l'analyse après des périodes de temps fixées. Pour les températures recommandées durant le transport et le stockage, il faut se référer aux normes internationales [11, 14 et suivantes].

3.1 Aspects juridiques

L'ordonnance du Conseil Fédéral sur l'exécution de la loi sur les denrées alimentaires (OELDAI) stipule dans son art. 40 que „ les autorités d'exécution s'assurent que les échantillons sont manipulés de manière à garantir leur validité juridique et analytique à tout moment lors de leur prélèvement, de leur transport et de leur analyse “ [4].

3.2 Lignes directrices techniques existantes

L'ordonnance d'exécution ne fixe que les exigences de base concernant la manutention des échantillons. D'autres exigences sont spécifiées dans diverses normes (voir exemples de la littérature [8], [11], [13], [14], [15], [17]).

3.3 Transport d'échantillons

3.3.1 Exigences générales

Certains laboratoires d'essai prélèvent des échantillons de manière autonome, par exemple les laboratoires d'entreprise. Il existe également des laboratoires qui prélèvent des échantillons pour le compte des clients, effectuent les essais nécessaires, évaluent et interprètent les résultats des analyses.

Lors du transport des échantillons jusqu'au lieu de l'analyse, il faut faire attention à ce que le statut microbiologique ne soit pas faussé. Les altérations peuvent se produire par une diminution ou surtout par une multiplication de microorganismes.

Le laboratoire d'essai qui prélève les échantillons, a la responsabilité de déterminer si des mesures telles que la réfrigération ou la congélation sont nécessaires durant le transport. Le type d'échantillons à transporter, en particulier de leur caractère périssable, la température ambiante ainsi que la durée du transport doivent être pris en compte. Il faut aussi tenir compte des températures de réfrigération prescrites par l'ordonnance sur l'hygiène pour certaines catégories de denrées alimentaires. Pour les produits de pêches frais, par exemple, une température de refroidissement de $\leq 2^{\circ}\text{C}$ s'applique [3]. Des dérogations à ces directives légales ne sont autorisés que s'il est démontré, sur la base d'une évaluation des risques, qu'une altération du statut microbiologique peut être exclue.

3.3.2 Exigences concernant l'équipement des véhicules transportant les échantillons

Dans certaines circonstances, les échantillons doivent être prélevés dans des endroits éloignés, de sorte que l'utilisation d'un véhicule est nécessaire. Ce dernier doit être équipé d'installations frigorifiques, de sorte que les exigences générales retenues sous 3.3.1 soient respectées. Si un tel véhicule est équipé d'un réfrigérateur, le refroidissement doit être aussi garanti lorsque le véhicule est à l'arrêt. Avant que le premier échantillon ne soit transféré dans le réfrigérateur, il faut vérifier que la température requise soit atteinte. La mesure de la température doit être effectuée à l'aide d'un équipement étalonné et adéquat (p. ex. thermomètre à infra-rouge ou enregistreur de température) et enregistrée, si nécessaire.

Dans le véhicule, les récipients et instruments stériles appropriés au prélèvement des échantillons doivent être disponibles mais aussi les outils nécessaires à l'identification univoque des échantillons. Lorsqu'il n'est pas possible de déterminer avec certitude qu'une multiplication du nombre de micro-organismes n'aura pas lieu dans certains produits alimentaires non refroidis, tous les échantillons prélevés pour un examen bactériologique doivent être refroidis, par mesure de précaution, conformément aux exigences des groupes

de produits correspondants. Si des produits congelés sont prélevés, il faut s'assurer que ceux-ci restent congelés jusqu'à leur arrivée au laboratoire d'essai. Ceci peut être assuré par exemple par une installation de congélation dans le véhicule ou en utilisant une quantité suffisante de neige carbonique.

3.4 Envoi des échantillons

Fréquemment, les laboratoires reçoivent des échantillons des clientes et clients, que ce soit par service de coursier ou par poste. Si des non-conformités sont constatées, il faut les communiquer aux clientes et clients. Les échantillons doivent être acheminés de telle manière que le statut microbiologique ne soit pas modifié. Concrètement, cela signifie que des contaminations par l'environnement doivent être exclues par l'utilisation de récipients d'échantillons et de matériel d'emballage appropriés. Si nécessaire, des mesures comme une réfrigération doivent être prise pour empêcher la croissance de germes dans les échantillons pendant le transport.

3.5 Réception des échantillons et première évaluation

À la réception au laboratoire, l'état de l'échantillon est enregistré et sa température est mesurée et enregistrée au besoin. Il faut en outre s'assurer que la quantité d'échantillon est suffisante, que les récipients d'échantillons sont intacts et que des contaminations par l'environnement peuvent être exclues. Si, pour ces points, des écarts sont constatés, la cliente et le client doit être informé dès que possible et l'essai doit être refusé et un nouvel échantillon doit être prélevé [14]. Si ce n'est pas possible, et que malgré tout, une analyse doit être effectuée, le rapport d'essai ne peut être délivré que « sous réserve », avec la mention des écarts constatés à la réception de l'échantillon [14].

Lors de la réception des échantillons, la date de réception et, le cas échéant, l'heure de réception doivent être enregistrées. Les échantillons reçoivent une identification univoque propre au laboratoire. Le système utilisé doit être conçu de manière à ce que la traçabilité à l'identification primaire de l'échantillon par la cliente et le client ou la préleveuse ou le préleveur soit garantie à tout moment. L'identification doit aussi garantir que toute confusion soit exclue dans les étapes suivantes de traitement, d'analyses et de calcul.

3.6 Entreposage des échantillons

Les locaux où les échantillons sont réceptionnés, stockés et redistribués, doivent être conçus de manière à garantir qu'aucune confusion ou inversion ne soit possible. L'air à l'intérieur du local ne doit pas être altéré (p. ex. par la ventilation, les systèmes de climatisation, d'autres matériaux stockés) afin de garantir qu'aucune contamination des échantillons ne soit possible et qu'il n'ait aucune influence sur l'analyse. Dans certaines circonstances, une évaluation des risques doit être effectuée en tenant compte des résultats des mesures régulières de la quantité de germes dans l'air ambiant.

Les échantillons doivent être stockés correctement jusqu'à l'analyse. Dans le cas des marchandises périssables susceptibles de contenir des germes, la chaîne du froid ne peut être interrompue que, dans la mesure où cela est nécessaire, pour le contrôle à la réception et l'enregistrement par le laboratoire d'essai.

Lorsque des échantillons sont fractionnés (par exemple pour des analyses microbiologiques et chimiques), leur statut microbiologique ne doit pas être modifié lors des manipulations (voir 4.1).

Les échantillons doivent être conservés de façon adéquate jusqu'à leur analyse. Dans le cas de marchandises microbiologiquement périssables, la chaîne du froid ne peut être interrompue que le temps nécessaire à leur prélèvement lors du contrôle et à leur identification univoque dès leur arrivée au laboratoire.

Si les échantillons sont divisés (aliquotés) (par exemple pour des analyses microbiologiques et chimiques), le statut microbiologique ne doit pas être modifié (voir 4.1).

Les échantillons dans lesquels les bactéries sont censées se multiplier doivent être testés dans les 24 heures suivant leur arrivée au laboratoire d'essai, si possible, à condition que la durée de conservation du produit soit garantie. Lors d'un stockage prolongé au réfrigérateur, il existe un risque que les germes psychrotrophes tolérant le gel ou le froid se multiplient de manière ciblée ou, au contraire, que certains types de germes plus psychrophiles meurent. Dans l'éventualité d'une répétition d'analyse, les échantillons doivent être stockés de telle sorte qu'ils ne puissent pas être contaminés par d'autres échantillons et que leur statut microbien soit préservé. Il faut considérer que certains microorganismes, comme les *Listeria*, peuvent aussi se multiplier à la température du réfrigérateur. Les références littéraires suivantes [8], [12], [13], [14] et [17] contiennent d'autres spécifications pour l'entreposage des échantillons.

4 Préparation pour l'analyse

Bien souvent, le « travail de laboratoire », proprement dit, ne commence qu'à cette étape. Il existe de nombreux exemples dans la littérature concernant la description des différentes étapes (fractionnement des échantillons, prélèvement dans l'échantillon, préparation de la suspension initiale). Les normes internationales suivantes ISO 7218 [14] et ISO 887-1,-2,-3, -4,-5 [12] servent de références à ce sujet.

4.1 Fractionnement des échantillons

Si des analyses microbiologiques et chimiques sont nécessaires pour un même échantillon, il faut que le fractionnement ait lieu impérativement dans des conditions stériles. Cela signifie que le prélèvement pour l'analyse microbiologique doit se faire en premier.

Jusqu'au moment du fractionnement, l'échantillon doit être conservé de telle sorte que le statut microbien ne soit pas altéré. Ceci est aussi valable pour les échantillons de réserve.

Pour les analyses chimiques (p. ex. analyse des composés volatils ou du vert de malachite), il faut veiller à ce que les substances à doser ne soient pas modifiées lors du "fractionnement des échantillons".

4.2 Prélèvement de l'échantillon d'analyse

En règle générale, seule une partie de l'échantillon envoyé au laboratoire est utilisée pour les analyses prévues. Dans ce qui suit, cette fraction est appelée « échantillon d'analyse » (voir aussi la partie 1 dans [12]).

En principe, on applique des techniques aseptiques. Sauf dispositions contraires spécifiques, les échantillons congelés doivent être décongelés et analysés le plus rapidement possible (parties 2-5, [12]).

Pour des échantillons hétérogènes, l'échantillon d'analyse doit être effectué, si possible, de telle manière que les différents composants soient prélevés dans les mêmes portions (partie 1, [12]). D'autres proportions sont aussi possibles en fonction de l'objectif de l'analyse.

Pour les échantillons d'essai d'échantillons regroupés "poolés" (voir chapitre 2.1.2.1.1), les prescriptions correspondantes de l'ordonnance sur l'hygiène [3] doivent être prises en compte.

4.3 Préparation de la suspension initiale

Pour préparer la suspension initiale, une étape d'homogénéisation de l'échantillon et une étape de dilution avec une solution de dilution sont généralement nécessaires. Cela ne s'applique pas aux liquides homogènes (partie 1, [12]). Pour les analyses qualitatives, la suspension de base est utilisée en tant que milieu de pré-enrichissement, soit, pour les analyses qualitatives, comme point de départ des dilutions décimales.

En ce qui concerne l'homogénéisation et la dilution, les normes correspondantes doivent également être consultées [12], [14]. Il est particulièrement important de noter que, selon la matrice et le germe recherché, différentes procédures peuvent être utilisées ou doivent être validées. On peut citer par exemple, la fonte du beurre (partie 5, [12]), l'utilisation de citrate de sodium lors de la dilution des fromages (partie 5, [12]) ou l'utilisation de milieux de pré-enrichissement spéciaux pour la détection de Salmonelles dans le cacao et les produits contenant du cacao ou dans des produits acides ou acidifiants [18].

Pour l'analyse des additifs ou des ingrédients de denrées alimentaires contenant des substances inhibitrices (p. ex. poudres d'oignon, d'ail, d'origan, de poivre et certaines variétés de thé ou de café), il faut réaliser des dilutions plus élevées (p. ex. 1/100 pour la cannelle et l'origan, 1/100 pour les clous de girofle) ou ajouter du sulfate de potassium (K_2SO_4) à l'eau peptonée tamponnée à une concentration finale de 0.5% (partie 4, [12]).

Key words

Microbiology; pre-analytic; sampling; food-control

5 Littérature

- [1] Union Européenne: Guidance Document on official controls, under Regulation (EC) No 882/2004, concerning microbiological sampling and testing of foodstuffs, 2006.
- [2] Conseil fédéral suisse: Ordonnance sur les denrées alimentaires et les objets usuels (ODAI), du 16 décembre 2016, (SR 817.02). <https://www.admin.ch>.
- [3] Département fédéral de l'intérieur: Ordonnance du DFI sur l'hygiène dans les activités liées aux denrées alimentaires (OHyg) du 16 décembre 2016 (RS 817.024.1). <https://www.admin.ch>.
- [4] Conseil fédéral suisse: Ordonnance sur l'exécution de la législation sur les denrées alimentaires (OELDAI) du 16 décembre 2016 (RS 817.042). <https://www.admin.ch>.
- [5] International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF): Microorganisms in Foods 2 - Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. Second edition, 1986. University of Toronto Press, Toronto, Canada.
- [6] ISO 2859, different parts: Sampling procedures for inspection by attributes.
- [7] Directives générales sur l'échantillonnage CAC/GL 50-2004. Codex Alimentarius.
- [8] ISO 17604:2015: Microbiology of the food chain - Carcass sampling for microbiological analysis.
- [9] ISO 24333:2009: Cereals and cereal products – Sampling.
- [10] ISO 5667-1:2006: Water quality – Sampling – Part 1: Guidance on the design of sampling programs and sampling techniques.
- [11] ISO 19458:2006: Water quality – Sampling for microbiological analysis.
- [12]: ISO 6887-1,-2,-3 -4, -5: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination.
 - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilution (2017).
 - Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products (2017).
 - Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products (2017).
 - Part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products (2017).
 - Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products (2010).

- [13] ISO/TS 17728:2015: Microbiology of the food chain – Sampling techniques for microbiological analysis of food and feed samples.
- [14] ISO 7218:2007: Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations.
- [15] ISO 707:2008 (IDF 50:2008): Milk and milk products - Guidance on sampling.
- [16] Baumgart, J. & B. Becker: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag, Hamburg, Deutschland, Loseblatt-Ausgabe (1994, laufende Aktualisierungen).
- [17] ISO 18593:2018: Microbiology of the food chain - Horizontal methods for surface sampling.
- [18] ISO 6579-1:2017: Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* spp. – Part 1 – Detection of *Salmonella* spp.
- [19] Lettre d'information 2018/4, BLV : "Instructions relatives à la réalisation de tests microbiologiques sur les carcasses dans le cadre de l'autocontrôle des abattoirs" (<https://www.blv.admin.ch/blv/fr/home/lebensmittel-und-ernaehrung/rechts-und-vollzugsgrundlagen/hilfsmittel-und-vollzugsgrundlagen/informationsschreiben.html>)

6 Adaptations de la version actuelle

Révision totale du document