

L'ECHANTILLONNAGE EN AGRO-ALIMENTAIRE

V. Carlier ^[1], Anne-Marie Vanelle ^[2]
et Chantal Chaubert Duffour ^[3]

Résumé

Après des généralités sur l'échantillonnage en hygiène alimentaire, notamment les plans d'échantillonnage, sont abordés les prélèvements réalisés en vue d'analyse bactériologique, parasitologique, physique, biochimique ou histologique dans les produits alimentaires.

Summary

General considerations on sampling and control plans in food hygiene are followed by more specific elements on sampling food for bacteriological, parasitological, physical, biochemical or histological examination.



I - GENERALITES SUR L'ECHANTILLONNAGE EN AGRO-ALIMENTAIRE

A - DEFINITIONS

L'échantillon est une partie plus ou moins importante d'un lot considéré comme homogène *a priori*, dont l'étude doit permettre de déduire, avec une sécurité convenable, la valeur du lot considéré vis-à-vis des critères analysés.

L'AFNOR, dans la norme NF X 06, considère l'échantillon comme la somme des objets ou des matières prélevés parmi l'ensemble possible ou **population**. Chacun des objets ou des matières constitue alors un « prélèvement élémentaire » ou mieux une "unité d'échantillonnage".

Ainsi, on dira couramment qu'un échantillon est constitué de n unités.

[1] Professeur, U.P. d'Hygiène alimentaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 94704 Maisons-Alfort, France

[2] Directrice du Laboratoire des Services vétérinaires du Val-de-Marne - 94155 Rungis, France

[3] Directrice du Laboratoire Charles Flachat - 69960 Corbas, France

L'échantillonnage d'un lot est un art compliqué, qui repose avant tout sur une connaissance solide de la **statistique**, c'est-à-dire, selon Schwartz "un mode de pensée permettant de recueillir, de traiter et d'interpréter les données qu'on rencontre dans divers domaines, et tout particulièrement dans les sciences de la vie, du fait que ces données présentent une caractéristique essentielle : la **variabilité**".

B - LE PROBLEME DE LA REPRESENTATIVITE DE L'ECHANTILLON EN AGRO-ALIMENTAIRE

La représentativité d'un échantillon par rapport à un lot peut être schématiquement affectée par deux causes majeures :

- Celles liées au lot que l'on échantillonne,
- Celles liées aux lois de la statistique.

1 - HOMOGENEITE DU LOT ECHANTILLONNE

Depuis des années, industriels de l'agro-alimentaire et pouvoirs publics s'interrogent, quand ils ne s'affrontent pas, pour définir ce qu'est un lot de denrées alimentaires.

La question est d'importance : elle conditionne en effet pour une bonne part l'efficacité des contrôles et rend possible le suivi des denrées alimentaires durant les opérations postérieures à leur fabrication, jusqu'à la remise au consommateur final. Elle permet par exemple de mettre en place des mesures de **rappel** lorsque le lot est reconnu dangereux, impropre à la consommation.

Actuellement, on tente de définir le "lot" de la façon suivante : "unités de même modèle, même fabrication, conditionnées dans un même lieu, transportées, stockées, et le cas échéant commercialisées dans des conditions uniformes".

De telles unités doivent, logiquement, porter une même identification (marque, numéro, ...).

L'application de cette définition dans la pratique pose de nombreux problèmes. Par exemple, dans le cas de la fabrication de steaks hachés dans des usines importantes, les hachoirs sont alimentés en continu... par une matière première dont on connaît l'hétérogénéité tant du point de vue de sa

composition chimique que de sa flore microbienne.

Dans ce cas, qu'est-ce qu'un lot ? Une trémie de viande ? Le contenu d'un cutter ? Une demi-journée de fabrication ?

Il n'existe pas de réponse à la fois satisfaisante et généralisable.

2 - APPLICATION DES LOIS DE LA STATISTIQUE

Prenons dans ce cas un exemple concret, très classique : on tire cent fois à pile ou face avec la même pièce. La logique veut que l'on obtienne autant de fois "pile" que "face" : il s'agit d'un événement probable, mais purement aléatoire. Pourtant, le résultat réel peut varier... de zéro fois "pile" à cent fois "pile" (cette éventualité sera rarissime).

Les tables statistiques nous donnent la probabilité de chaque événement, c'est-à-dire des fluctuations autour de la valeur "50 %" (la plus probable). Ce sont les **fluctuations d'échantillonnage**, qui obligent en pratique à préciser à la fois :

- La valeur probable (ou le critère),
- La "fourchette", ou intervalle de confiance, à l'intérieur de laquelle l'événement recherché peut raisonnablement se produire.

Pour des raisons pratiques de simplification des calculs mathématiques, cette fourchette est souvent adoptée pour le risque d'erreur 5 p. 100 : on s'arrange pour que le critère soit encadré des valeurs permettant de ne se tromper que dans 5 p. 100 des cas.

L'échantillonnage est donc fondé sur une politique du "**risque d'erreur consenti**".

C - LE RISQUE D'ERREUR

On peut décider à tort du devenir d'un lot de deux façons radicalement opposées :

- La qualité réelle du lot de denrées est bonne, mais le résultat de l'échantillonnage conduit à la retirer de la consommation : c'est le **risque du producteur**.

- La qualité réelle du lot de denrées est mauvaise, pourtant l'application du plan d'échantillonnage ne détecte pas la défaillance, et le lot est accepté : c'est le **risque du consommateur** .

En pratique, la prise en compte de ces deux risques, ainsi que des considérations économiques inhérentes à l'échantillonnage et aux analyses, conditionne le choix des **plans d'échantillonnage** .

D - LES PLANS D'ECHANTILLONNAGE

1 - TAILLE DE L'ECHANTILLON PAR RAPPORT A LA TAILLE DU LOT

De façon très générale, la taille d'un échantillon ne doit pas excéder 10 p. 100 de la taille du lot, surtout si l'analyse est destructrice, ce qui est généralement le cas en microbiologie.

Par ailleurs, il est intuitif que plus la taille de l'échantillon augmente, plus le risque de se tromper diminue. C'est vrai, mais il faut savoir qu'on est mal récompensé de ses efforts, puisque la dimension de l'intervalle de confiance est proportionnelle à la **racine carrée** du nombre d'échantillons.

Par contre, comme le souligne Schwartz la dimension de l'intervalle de confiance est indépendante de la taille du lot : elle ne dépend que de la taille de l'échantillon.

En pratique, l'arrêté interministériel du 21 décembre 1979 prévoit que les échantillons seront constitués, quel que soit le cas, de **cinq unités**. On verra plus loin quelle est l'efficacité d'un tel plan, en fonction des risques du producteur et du consommateur.

Il est possible de concevoir d'autres types d'échantillonnage en fonction des circonstances.

Ainsi, en cas d'expertise, le plan suivant est classiquement adopté, pour un échantillon volumineux :

- Lot de moins de 1.000 unités : on prélève \sqrt{n} , c'est-à-dire (au maximum) $\sqrt{1.000} \cong 34$ unités
- Lot de plus de 1.000 unités :
→ pour les 1.000 premières unités : $\sqrt{n} = 34$ unités

- De la 2.000^e à la 10.000^e unité = 1 unité par 1.000 supplémentaire
- De la 10.000^e à la 100.000^e unité = 1 unité par 10.000 supplémentaire
- etc.

Ce plan, très progressif, permet un échantillonnage correct des lots de très grande taille sans pour autant surcharger les laboratoires.

Il est fondamental de noter que, si l'on veut juger de la salubrité ou de la qualité d'un lot, les prélèvements doivent être effectués **AU HASARD**. Il n'est pas question par exemple, si le lot se présente sous forme de palettes, de ne prélever que les emballages situés en périphérie des palettes, pour des raisons de commodité. Des tables, des fonctions informatiques aléatoires existent pour aider le préleveur à ne pas biaiser, consciemment ou inconsciemment, le prélèvement.

La situation est toute autre lorsque, dans un lot, on recherche spécifiquement l'existence d'une altération précise, ou le degré de gravité de celle-ci : il faudra bien entendu, dans ce cas, rechercher aux endroits où l'altération a le plus de chances de se produire.

2 - CHOIX DU MODE D'INTERPRETATION

a. LES PLANS A DEUX CLASSES

Dans ce cas, le résultat de l'analyse est "blanc ou noir", "bon ou mauvais", "satisfaisant ou non satisfaisant". Il n'y a pas de résultat "gris", litigieux, intermédiaire.

De tels plans sont adoptés pour les critères de **santé publique**, c'est-à-dire pour toutes les éventualités mettant gravement et directement en cause la santé du consommateur :

- Présence de germes pathogènes dans un lot (Salmonelles, ...)
- Présence de résidus toxiques ou frauduleux (Chloramphénicol, β -agonistes, ...)

b. LES PLANS A TROIS CLASSES

On définit dans ce cas plusieurs paramètres :

- Le critère (symboliquement appelé "m") : c'est la valeur considérée comme la limite normale
- Le seuil d'acceptabilité (symboliquement appelé "M") : c'est la valeur au-delà de laquelle les résultats sont inacceptables
- Le nombre d'unités dont on tolère que le résultat analytique soit compris entre le critère et le seuil d'acceptabilité (symboliquement appelé "c")
- La qualité attendue du lot échantillonné ; on se fixe par avance ce que l'on désire obtenir :

$x < 20\%$ } c'est le « NIVEAU DE QUALITE
 $y \geq 60\%$ } TOLEREE » (NQT) qu'il vaudrait
 $z \geq 20\%$ } mieux appeler « niveau de
 qualité à rejeter »

Les trois tableaux suivants donnent des exemples d'efficacité (probabilités d'acceptation) de quelques plans d'échantillonnage couramment employés :

les plans
 $n = 5, c = 2$ (tableau I)
 (A.I.M. du 21/12/79)
 $n = 6, c = 2$ (tableau II) (Plan "Fraudes")
 $n = 10, c = 4$ (tableau III)

$x\%$ d'unités satisfaisantes (résultat $\leq m$)
 $y\%$ d'unités acceptables ($m < \text{résultat} < M$)
 $z\%$ d'unités inacceptables (résultat $\geq M$)

Le recul de plusieurs dizaines d'années d'analyses microbiologiques a conduit à fixer, dans le cadre de l'Arrêté interministériel du 21 décembre 1979, ces trois valeurs comme suit :

$x \geq 68\%$ } c'est le NIVEAU DE
 $y \leq 30\%$ } QUALITE ACCEPTABLE
 $z < 2\%$ } (ou NQA)

Ces valeurs correspondent à celles d'un lot que l'on veut accepter le plus souvent.

Par contre, les lots que l'on souhaite rejeter le plus souvent correspondent à la répartition suivante :

Sur le premier tableau, on remarque, à l'intersection de l'abscisse $y = 30\%$ et de l'ordonnée $z = 2\%$ (correspondant au NQA), une probabilité d'acceptation de 0,75 : c'est-à-dire qu'on a encore 1 chance sur 4 de rejeter un tel lot, pourtant satisfaisant.

Par contre, on n'a que 4 chances sur 100 d'accepter un lot défaillant (intersection de l'abscisse $y = 60\%$ et $z = 20\%$). Ce plan est particulièrement favorable au consommateur... peut-être au détriment du producteur.

Les tables complètes, fournissant les probabilités d'acceptation en fonction de la taille de l'échantillon et de la tolérance, sont disponibles dans divers documents spécialisés.

Tableau I : Probabilités P_a d'acceptation pour $n = 5$ et $c = 2$ de lots

$z\%$ \ $y\%$	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90
60	0,01	0,01								
50	0,08	0,02	0,02	0,01						
40	0,08	0,07	0,07	0,03	0,01					
30	0,16	0,16	0,14	0,11	0,06	0,02				
20	0,33	0,32	0,30	0,23	0,16	0,09	0,04			
10	0,59	0,58	0,55	0,46	0,36	0,23	0,13	0,04	0,01	
5	0,77	0,77	0,72	0,63	0,50	0,35	0,20	0,09	0,02	
2	0,90	0,90	0,89	0,75	0,60	0,44	0,27	0,13	0,04	
1	0,95	0,94	0,90	0,80	0,65	0,46	0,29	0,15	0,05	0,01
0,1	0,99	0,98	0,93	0,81	0,67	0,50	0,32	0,16	0,06	0,01

Tableau II : Probabilités P_a d'acceptation pour $n = 6$ et $c = 2$ de lots

y% z%	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	95
50	0,02	0,01	0,01								
40	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01						
30	0,12	0,11	0,09	0,04	0,03	0,01					
20	0,26	0,25	0,22	0,16	0,09	0,04	0,01				
10	0,53	0,32	0,46	0,36	0,24	0,13	0,05	0,01			
5	0,74	0,72	0,65	0,53	0,37	0,22	0,10	0,03	0,01		
2	0,89	0,87	0,79	0,85	0,47	0,29	0,14	0,05	0,01		
1	0,94	0,95	0,85	0,70	0,50	0,31	0,16	0,06	0,01		
0,1	0,99	0,98	0,90	0,74	0,54	0,26	0,18	0,07	0,02		

Tableau III : Probabilités P_a d'acceptation pour $n = 10$ et $c = 4$

y% z%	1	10	20	30	40	50	60	70	80
30	0,03	0,03	0,03	0,02	0,01				
20	0,11	0,11	0,10	0,08	0,04	0,01			
10	0,35	0,35	0,33	0,27	0,18	0,04	0,03		
5	0,60	0,60	0,56	0,49	0,35	0,19	0,07	0,01	
2	0,82	0,82	0,79	0,69	0,50	0,29	0,12	0,03	
1	0,90	0,90	0,87	0,76	0,56	0,33	0,14	0,04	0,01
0,1	0,99	0,99	0,96	0,84	0,63	0,37	0,16	0,05	0,01

II - MODALITES DE PRELEVEMENTS EN VUE D'UNE ANALYSE DE BACTERIOLOGIE ALIMENTAIRE

Le résultat de l'analyse de bactériologie alimentaire n'est représentatif de la qualité hygiénique de la denrée que si les différentes étapes du prélèvement ont été menées avec rigueur ; l'analyse de l'indication du recours au laboratoire, le choix du prélèvement, le plan d'échantillonnage, la réalisation du prélèvement, le recueil des commémoratifs, les modalités de conservation et d'expédition sont autant de facteurs qui influent de façon déterminante sur la qualité de l'analyse et le bien fondé de l'interprétation des résultats.

A - LES INDICATIONS DU RECOURS AUX ANALYSES DE BACTERIOLOGIE ALIMENTAIRE

La décision du recours au laboratoire doit être réfléchie afin d'éviter les analyses inutiles qui peuvent se révéler inexploitable (voire en contradiction avec des éléments de décision d'autre nature), alourdir le coût du contrôle, ou être incompatibles avec les délais de conservation de denrées périssables.

Dans la démarche du contrôle vétérinaire des denrées animales le résultat d'analyse intervient en tant qu'élément complémentaire des observations macroscopiques et réglementaires de l'inspection sanitaire. Le recours au laboratoire n'est donc justifié que s'il n'existe pas d'éléments d'inspection suffisants pour prendre une décision, ceci afin d'éviter qu'un recours systématique au laboratoire ne se substitue à des techniques d'inspection couvrant des domaines plus larges.

Par ailleurs, la décision de demander des analyses doit prendre en compte leur coût ; une

analyse classique de bactériologie alimentaire accompagnée d'une recherche de *Listeria* est chiffrée en moyenne à 480 francs, ce qui conduit à cibler les demandes selon le but de l'analyse et les types de recherches souhaités.

Enfin, les délais de réponse du laboratoire peuvent ne pas être compatibles avec la durée de vie des denrées en attente des résultats ; le tableau IV résume les délais d'obtention des résultats des examens les plus courants en bactériologie alimentaire.

Tableau IV : Délais de réponse du laboratoire pour les analyses courantes en bactériologie alimentaire

DEMANDE	DELAI DE REPONSE
Antibiotiques (test microbiologique)	24 heures
Coliformes 30°C et coliformes fécaux	24 heures
Anaérobies sulfito-réducteurs à 46°C	24 heures
Flore aérobie mésophile 30°C	72 heures
<i>Staphylococcus aureus</i> pathogène	2 à 4 jours (selon absence ou présence de souches suspectes)
Salmonelles par méthode AFNOR de référence	3 à 5 jours (selon absence ou présence de souches suspectes)
Salmonelles par technique rapide validée AFNOR	2 à 5 jours selon réponse négative ou positive du test (nécessité dans ce cas de confirmer par des tests classiques)
<i>Listeria monocytogenes</i>	5 à 8 jours (selon absence ou présence de souches suspectes)

REMARQUE

Ces délais sont donnés dans le cas d'un déroulement optimal de l'analyse et sans tenir compte du repos hebdomadaire. Pour les échantillons congelés il faut rajouter le temps de décongélation qui peut aller jusqu'à une nuit à 3°C pour les pièces de gros volume.

Néanmoins, il y a des cas où le recours au laboratoire s'impose ; ce sont en particulier les abattages d'urgence, les plans de surveillance, les contrôles officiels d'auto-contrôles, les toxi-infections alimentaires, les enquêtes demandées par la D.G.A.L., suite à des accidents de santé publique. Ces contrôles portent le plus souvent sur la qualité du produit fini.

Les Directives communautaires relatives aux contrôles vétérinaires dans les échanges intra-communautaires insistent sur l'obligation pour les responsables d'établissements d'effectuer des auto-contrôles et de mettre en place des procédures de mise sous assurance qualité selon la méthode HACCP ; ces mesures vont renforcer le rôle du laboratoire dans les contrôles en cours

de chaîne à certains points critiques et lors de la mise au point des procédés de fabrication.

Dans certains cas, il est par contre souhaitable d'éviter les analyses de laboratoire :

- L'analyse de certaines denrées non transformées telles que les carcasses réfrigérées ne présentant pas de lésions ou les poissons entiers est de peu d'intérêt en raison de la meilleure fiabilité de l'inspection macroscopique.
- De même, les analyses en fin de chaîne de distribution permettent rarement de corriger des situations en raison de la multiplicité des intervenants depuis la fabrication, et de la dilution des responsabilités qui en résulte ; ces

analyses peuvent avoir un intérêt épidémiologique, mais doivent alors être effectuées dans le cadre d'études dont le protocole satisfait aux règles statistiques.

B - LE CHOIX DU PRELEVEMENT

Pour exploiter au mieux des résultats d'analyse, il faut que le prélèvement soit ciblé sur les denrées à risques, les denrées révélatrices de l'hygiène de fabrication, et les lieux où il est judicieux de les effectuer.

1 - LES DENREES A RISQUE

Les denrées présentent des risques variables selon leur nature, leur origine géographique ou même le type de consommateur considéré.

Certaines natures de denrées présentent des risques accrus ; parmi celles-ci figurent les denrées ayant subi des manipulations sans étape assainissante postérieure et consommées sans cuisson préalable : pâtisseries à la crème, entrées froides, sandwiches composés, charcuteries cuites conditionnées après cuisson, fromages au lait cru, ...

L'origine géographique de la denrée peut influencer sur le degré du risque ; les produits de la pêche en provenance de pays tiers où sévissent des épidémies de choléra ou de typhoïde constituent par exemple des risques qu'il faut savoir estimer.

Enfin, l'appréciation du risque est liée au consommateur potentiel : les aliments mixés destinés à l'alimentation parentérale de malades ou les aliments diététiques pour nourrissons constituent autant d'exemples d'un risque consommateur accru.

2 - LES DENREES INDICATRICES DE L'HYGIENE DE FABRICATION

Lorsque le but de l'analyse est d'évaluer l'hygiène lors de la fabrication, les denrées sélectionnées doivent être de bons indicateurs de cette qualité ; ce sont également les denrées remanipulées après cuisson ou fabriquées sans traitement assainissant qui constitueront les meilleurs indicateurs d'hygiène. Il serait vain de contrôler la qualité d'une production de cuisine de restauration collective en prélevant exclusivement des plats cuisinés sans remanipulation après cuisson ; l'analyse d'entrées froides, de viandes tranchées, de pâtisseries

fournit plus d'informations sur l'hygiène de l'établissement.

3 - LE CHOIX DU LIEU DE PRELEVEMENT

Le choix du lieu de prélèvement influe sur la nature et la qualité des informations fournies par l'analyse ; les prélèvements doivent intervenir le plus près possible de la fabrication afin d'éviter l'intervention de paramètres (transport, exposition à la vente, remanipulations) qui rendront le résultat inexploitable. Ces contrôles en sortie d'usine doivent s'accompagner d'analyses en fin de date limite de conservation pour évaluer la durabilité du produit.

En sus de ces contrôles de produits finis, la nouvelle approche en hygiène alimentaire privilégie désormais les contrôles de produits intermédiaires prélevés aux différents points critiques du procédé de fabrication.

C - LE PLAN D'ECHANTILLONNAGE

L'aspect théorique de l'échantillonnage étant traité précédemment, ce paragraphe est un rappel pratique des étapes d'un plan d'échantillonnage.

1 - DEFINITION DU LOT

Il est d'abord nécessaire de définir précisément le lot à prélever, c'est-à-dire l'ensemble d'unités produites dans des conditions présumées uniformes. Cette définition, étape primordiale, pose des problèmes pratiques fréquents : chargements hétérogènes contenant de nombreux lots (denrées ou dates de fabrication différentes), denrées produites le même jour mais sur des chaînes de fabrication différentes...

La résolution de ce type de problèmes tient compte à la fois du but recherché et des contraintes matérielles (coût des unités prélevées, coût des analyses).

2 - DEFINITION DE L'UNITÉ

La définition du lot doit s'accompagner de la définition de l'unité élémentaire prélevable : soit le poids s'il s'agit de vrac, soit le tout ou partie du conditionnement s'il s'agit de denrées emballées.

3 - LE CHOIX DU NOMBRE D'UNITES PRELEVEES

L'arrêté ministériel du 21/12/79 a fixé pour le contrôle de la qualité bactériologique d'un lot, un nombre n d'unités égal à 5 quelle que soit la taille du lot. Les directives européennes relatives aux produits laitiers et aux viandes hachées ont également retenu un plan portant sur 5 unités.

D - MODALITES DU PRELEVEMENT

1 - REGLES GENERALES

La réalisation du prélèvement doit respecter la règle de la prise au hasard et de façon indépendante des unités ; le préleveur doit veiller à ne pas privilégier, consciemment ou non, la prise de certaines unités, par exemple plus facilement accessibles ou attirant l'attention en raison d'une anomalie.

La deuxième règle est la nécessité de ne pas apporter de contaminations microbiologiques extrinsèques lors de l'opération de prélèvement d'une unité destinée à l'analyse bactériologique.

2 - METHODE

Les modalités de prélèvement doivent respecter les impératifs suivants :

- Utilisation de matériel de préhension (en général pince, scalpel, cuiller ou gant) et de conditionnement (flacon ou sachet plastique) stériles,
- Respect des précautions d'asepsie,
- Conditionnement de chaque unité prélevée dans un récipient ou sac fermé pour éviter toute contamination extrinsèque ou inter contamination entre les différentes unités après prélèvement,
- Identification lisible et indélébile de l'unité sur chaque conditionnement,
- Report systématique de cette identification sur les feuilles de commémoratifs,
- Mise au froid immédiate des échantillons après prélèvement (en général glacière portative avec sachets de glace, plaques eutectiques ou neige carbonique).

L'ensemble du matériel nécessaire figure dans le tableau V.

Le laboratoire doit disposer, pour conduire une analyse classique de bactériologie, d'au moins 100 g d'échantillon. Si la recherche de *Listeria* est demandée conjointement, le poids minimal devra être de 200 g (le prélèvement de deux portions de 100 g est mieux approprié car le laboratoire traite séparément ces deux types d'analyses). Il faut penser à ajouter les volumes nécessaires à l'analyse chimique.

Tableau V : Matériel nécessaire

MATERIEL NECESSAIRE POUR LES PRELEVEMENTS	
<ul style="list-style-type: none"> - Container de transport isotherme type glacière, voire container frigorifique. - Matériel producteur de froid : plaques eutectiques, sachets de glace, neige carbonique. - Conditionnements stériles : <ul style="list-style-type: none"> . Sachets en polypropylène transparent avec ou sans fermeture (dans ce cas prévoir un ruban adhésif ou une barrette de fermeture, éviter les agrafes) ; volume habituel : 400 ml Appellation courante : sacs STOMACHER™. . Pots à usage unique en polypropylène de 350 ml minimum à ouverture large stérilisés par rayonnement Y. . Bocaux en verre stérilisés à l'autoclave par le laboratoire. - Ciseaux. - Stylos feutres indélébiles marquant sur le verre ou le plastique pour identification des échantillons. - Sachets pour isoler au fur et à mesure le matériel ou les papiers d'emballage d'instruments utilisés. - Matériel stérile de préhension : <ul style="list-style-type: none"> . Cuiller ou louche. . Pince. . Ensemble pince et scalpel. . Gant stérile ou technique du sac stérile inversé. - Stylo et feuille de commémoratifs préimprimée ; éventuellement fiche de procès-verbal de prélèvement. 	
MATERIEL SPECIFIQUE A CERTAINS TYPES DE PRELEVEMENTS	
<ul style="list-style-type: none"> - Couteau propre pour prélever les cubes de viande sur les carcasses à l'abattoir. - Carrés en inox évidés pour déterminer une surface : contrôles de contamination de surface sur les carcasses ou les matériels et locaux. - Scie à congélés ou perceuse à mèche métallique flambable pour les pièces congelées. - Produits laitiers (cf. norme AFNOR V 04-150) : plongeurs et agitateurs, louche, cylindres d'extraction, sondes à beurre, à fromage, à lait sec. 	

E - MODALITES PARTICULIERES A CERTAINS TYPES DE PRELEVEMENTS

1 - LES CARCASSES FRAICHES D'ANIMAUX DE BOUCHERIE

Les carcasses peuvent faire l'objet de deux types d'analyse : l'analyse du muscle en profondeur (cas de l'abattage d'urgence ou de l'existence de certaines lésions) ou l'analyse de surface (contrôle de l'hygiène des manipulations).

Le prélèvement destiné à une analyse en profondeur est constitué d'un cube de viande de 10 cm de côté découpé dans la masse des anconés ou du semi-membraneux ou du semi-tendineux ; il est réalisé à l'aide d'un couteau stérilisé par flamage et doit porter sur un muscle unique car les aponévroses

intermusculaires sont une voie de contamination par la flore de surface de la carcasse.

Le prélèvement destiné à une analyse de surface est constitué d'un lambeau cutané de surface connue (en général 25 cm²) délimité par une incision au scalpel suivant les contours d'un emporte pièce métallique ; le lambeau est ensuite levé sur une épaisseur d'environ 0,5 cm à l'aide d'une pince et scalpel. La norme AFNOR V 04-501 normalise ce type de prélèvement. Pour tenir compte de l'hétérogénéité de répartition des bactéries en surface des carcasses, 3 sites de prélèvements sont en général retenus : la poitrine, l'épaule et la région lombaire.

2 - LES DENREES CONGELEES

Les pièces congelées doivent de préférence être apportées entières au laboratoire car celui-ci est responsable de la maîtrise des conditions de décongélation ; dans le cas de pièces de coût élevé, un prélèvement peut être réalisé sur la pièce congelée soit avec une perceuse à mèche soit avec une scie, en respectant des conditions de stérilité qui sont parfois difficiles à assurer sur le terrain.

3 - LES DENREES CONDITIONNEES

Les produits conditionnés doivent être adressés sans rupture de leur conditionnement d'origine. Cette précaution garantit l'absence de contamination extrinsèque et permet une identification complète de l'échantillon ; elle est particulièrement importante dans le cas des conditionnements sous vide, la rupture du sous vide modifiant totalement l'écologie microbienne de la denrée.

4 - LES CONSERVES

Le prélèvement de conserves est constitué de 5 unités du même lot, portant donc le même estampage ; il faut veiller à ne pas prélever d'unités présentant des anomalies : bombement (motif réglementaire de saisie sans analyse), flochage, fuitage ou chocs (possibilité de microfuites au niveau des serts).

5 - LES COQUILLAGES VIVANTS

Le laboratoire doit disposer de 100 g de chair intervalvaire, ce qui correspond en moyenne à 8 huîtres ou 1/2 litre de moules ; les coquillages morts ne doivent pas faire l'objet d'analyse puisqu'ils relèvent de la saisie d'emblée.

6 - LES PRODUITS LAITIERS

La norme AFNOR V 04-150 normalise les modalités de prélèvement de ces produits très divers qui nécessitent des appareillages spécifiques tels que plongeurs-agitateurs pour homogénéiser le lait, louches et cylindres d'extraction pour produits liquides, sondes pour les poudres, les beurres et les fromages.

7 - LES PRELEVEMENTS EN VUE D'UN CONTROLE A LA DATE LIMITE DE CONSERVATION

Le laboratoire doit disposer d'un conditionnement intact identique à celui utilisé dans le circuit de vente afin que les conditions de conservation soient celles de la commercialisation ; si 2 analyses sont demandées : JO et DLC, deux conditionnements séparés doivent être adressés au laboratoire.

F - LES COMMÉMORATIFS D'ACCOMPAGNEMENT

La qualité de ces commémoratifs est primordiale pour la qualité de l'analyse. La fiche de commémoratifs remplit les fonctions suivantes :

- Identification de l'échantillon par report du numéro inscrit sur le sachet de prélèvement,
- Identification du demandeur de l'analyse, seul destinataire des résultats,
- Identification de la nature de la denrée, déterminante pour la technique d'analyse,
- Identification de l'origine de la denrée,
- Identification des examens demandés,
- Information utile sur le motif de l'analyse ; dans le cas de toxi-infections alimentaires il est souhaitable que le laboratoire dispose de la description des symptômes, afin d'orienter au mieux les recherches.

L'absence de cette fiche de commémoratifs ou l'insuffisance des renseignements apportés est un motif de refus de l'échantillon par les laboratoires sous assurance qualité.

G - LE CHOIX DU LABORATOIRE

1 - DISPOSITIONS REGLEMENTAIRES

S'il s'agit d'une analyse demandée dans le cadre de contrôles officiels du Ministère de l'Agriculture, le laboratoire destinataire doit être agréé par ce Ministère pour le type d'analyse demandé, sur le type de produit concerné.

Actuellement, l'ensemble des laboratoires vétérinaires départementaux, les laboratoires nationaux de Corbas et Rungis, le C.N.E.V.A. et tous les laboratoires accrédités par le COFRAC (ex RNE) sont agréés pour toutes les analyses de bactériologie alimentaire.

2 - DISPONIBILITE DU LABORATOIRE DESTINATAIRE

Il est souhaitable d'avoir un contact téléphonique avec le laboratoire avant envoi de l'échantillon. Celui-ci permet de préciser :

- La possibilité pour le laboratoire de traiter les échantillons en fonction de leur nombre et de la nature de l'analyse ; l'étalement dans le temps des envois facilite le fonctionnement sous assurance qualité des laboratoires,
- Les délais de réponse : les délais des principaux examens de bactériologie alimentaire sont portés dans le tableau IV,
- Les jours et heures de réception à respecter si l'on souhaite une mise en analyse immédiate et selon les normes AFNOR :
 - . Salmonelles : mise en analyse impossible le vendredi sauf si le laboratoire travaille le dimanche
 - . *Listeria* : mises en analyse limitées au lundi, mardi, mercredi.

De façon générale, les échantillons doivent arriver au laboratoire avant 13 heures pour permettre une mise en analyse le jour même ; dans le cadre d'analyses urgentes, le laboratoire peut éventuellement déroger à cette règle, mais il s'agit de mesures d'exception qui mettent toujours le laboratoire en difficulté quant au respect des procédures de mise sous assurance qualité.

H - MODALITES D'ENVOI

La durée et les conditions du transport ne doivent pas influencer sur la qualité bactériologique initiale.

1 - MOYENS DE TRANSPORT

L'envoi peut s'effectuer par dépôt direct, par transporteur (développement des sociétés spécialisées dans les livraisons rapides de petits colis), par voie postale ; dans ce dernier cas il est préférable d'expédier en début de semaine et en

utilisant des services rapides (CHRONOPOST ou COLISSIMO).

2 - MODALITES D'EMBALLAGE

Le transport doit s'effectuer obligatoirement sous régime du froid :

- Le maintien de la température est obtenu le plus souvent à l'aide de plaques eutectiques, de neige carbonique ou de sachets de glace ; cette dernière solution est à éviter en raison des fréquentes ruptures des sachets et de la rapidité de fusion.
- L'isolation thermique est obtenue en disposant une matière isolante (billes de polystyrène, papier Sopalin™, ...) entre les différents échantillons et en plaçant le tout dans une boîte en polystyrène expansé.
- La congélation des échantillons prélevés à l'état réfrigéré est à éviter dans le cas de la bactériologie alimentaire car elle entraîne un stress, voire des lésions létales, de certaines bactéries ; elle ne doit pas être utilisée dans le cas de toxi-infections alimentaires, en raison de son action sur des bactéries comme *Clostridium perfringens* qui peuvent subir un taux de destruction de l'ordre de 99,5% de leur forme végétative. L'utilisation de ce mode de conservation, lorsqu'il ne peut pas être évité, devrait être portée sur la fiche de commémoratifs puis figurer sur le compte rendu d'analyse.

Les risques inter contaminations doivent être évités : chaque échantillon est placé dans un conditionnement étanche et si possible incassable ; l'utilisation d'une matière isolante séparant les échantillons et la réalisation d'un emballage serré diminuent les chocs.

L'identification de l'échantillon doit être protégée :

- A cet effet, il est préférable d'éviter les étiquettes et d'inscrire les numéros directement sur les sachets ou flacons à l'aide d'un feutre indélébile ; en cas de doute, on peut recourir à un système de double conditionnement.

- Les feuilles de commémoratifs doivent être séparées des échantillons afin d'éviter leur détérioration par l'eau de condensation des plaques eutectiques ; elles sont placées de préférence dans une enveloppe collée sur l'extérieur de l'emballage qui peut servir de support à l'adresse d'expédition.

I - MOTIFS DE REFUS DES ECHANTILLONS PAR LE LABORATOIRE

L'obligation réglementaire pour les laboratoires de bactériologie alimentaire d'être accrédités par le COFRAC, organisme national d'accréditation, conduit à la nécessité de mise sous assurance qualité ; les exigences du programme d'accréditation comportent la mention suivante : "Les échantillons doivent parvenir au laboratoire dans des conditions qui évitent une modification du nombre et de la nature des micro-organismes présents et dans les quantités nécessaires aux analyses".

Lorsque les échantillons parvenant au laboratoire ne satisfont pas à ces exigences la laboratoire doit, soit refuser les échantillons, soit émettre des réserves sur la signification des résultats.

Lors de refus d'échantillons, le laboratoire doit rédiger une fiche d'anomalie destinée à l'expéditeur qui rappelle l'identification de l'échantillon et détaille le motif du refus.

J - CONCLUSION

L'étape du prélèvement est déterminante pour la qualité et l'intérêt de l'analyse à laquelle il est destiné. Les contraintes imposées aux laboratoires en matière d'assurance de la qualité rendent indispensable la collaboration entre les entités responsables des prélèvements et les laboratoires afin d'établir des procédures de prélèvement qui puissent garantir la qualité globale du contrôle, depuis le prélèvement jusqu'à l'interprétation du résultat de l'analyse.

III - REALISATION DES PRELEVEMENTS EN VUE DES ANALYSES PARASITOLOGIQUES, PHYSIQUES, BIOCHIMIQUES ET HISTOLOGIQUES DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES

A - RECHERCHES PARASITOLOGIQUES

En parasitologie, la mise en évidence d'éléments vivants comme les larves notamment, nécessite l'envoi de prélèvements à l'état frais car la congélation entraîne l'éclatement des tissus rendant la diagnose impossible. La recherche de larves de trichines sur les suidés et les équidés nécessite le prélèvement d'environ 30 g de muscle bien irrigué comme le diaphragme ou ses piliers. La diagnose consiste en une trichinoscopie réalisée après digestion pepsique des fragments musculaires.

B - RECHERCHES CHIMIQUES

1 - RADIONUCLEIDES

La recherche de la présence de résidus de radionucléides est réalisée par spectrométrie γ . Le prélèvement représente un volume de 200 ml pour les produits liquides ou 200 g pour les produits solides. En période de crise, il conviendrait d'augmenter cette prise d'essai à 1 l. ou à 1 kg pour réaliser un dosage précis sur produit déshydraté. La congélation du produit est possible.

2 - ANALYSES CHIMIQUES DE COMPOSITION

L'analyse chimique des produits alimentaires a pour but de déterminer la composition organique, de doser les substances adjuvantes (ingrédients ou additifs utilisés pour augmenter l'appétence, la stabilité, la conservation des aliments) dont la réglementation limite l'usage, d'éliminer les composés nocifs à la santé du consommateur et enfin de repérer l'utilisation en élevage de substances frauduleusement ajoutées dans un but lucratif. Les produits organiques sont décomposés progressivement, induisant l'apparition de métabolites pouvant interférer sur la diagnose des substances chimiques recherchées. La congélation fixe le produit dans son état initial sans modifier sa composition. C'est donc le mode préférentiel de conservation des prélèvements adressés au laboratoire pour analyse chimique, ce qui a, en outre, l'avantage pour ce dernier de planifier son activité par passage de séries d'échantillons sur un appareillage souvent coûteux.

3 - ANALYSES HISTOLOGIQUES

L'analyse de la composition biochimique nécessite environ 100 g de produit, pour lequel on prendra garde à réduire au minimum le contact avec l'air pour garantir l'humidité intrinsèque, et permet de connaître la valeur calorique des aliments. L'analyse histologique conjointe permet une cartographie des composants comme la différenciation protéines végétales - protéines animales, impossible chimiquement ou encore l'identification des tissus dans les produits composites. Le prélèvement destiné à l'analyse histologique ne doit jamais être congelé car ce procédé fait éclater les cellules dont l'identification est la base de cette diagnose. Le prélèvement doit être inférieur à 2 cm d'épaisseur, introduit dans un conservateur à raison de dix fois le volume du prélèvement. On utilise le formol à 10% ou le liquide de Bouin dans les cas de prélèvement d'échantillon de système nerveux.

4 - DIAGNOSE DIFFÉRENTIELLE DES "VIANDES JAUNES"

La diagnose différentielle entre l'ictère et l'adipoxanthose se réalise à partir d'un prélèvement de 20 à 30 g de graisse choisie par commodité au moment de l'éviscération à l'abattoir dans la graisse périrénale. L'analyse consiste à séparer par chauffage en présence de soude la phase grasse liquide de la phase

aqueuse par différence de densité. Les pigments biliaires néfastes d'un jaune verdâtre sont hydrosolubles, alors que les pigments caroténoïdes, d'un jaune doré, sont solubles dans les graisses.

5 - HISTAMINE

L'ingestion d'histamine par le consommateur peut engendrer une intoxication avec apparition rapide de troubles vasomoteurs. Ce phénomène est imputable dans la majorité des cas à l'ingestion de muscles de poissons volumineux tels que les thonidés. Le prélèvement de 100 à 150 g est réalisé en deux localisations : la masse musculaire dorsale et la paroi abdominale. Les techniques actuelles de détection sont la chromatographie planaire et la chromatographie liquide de haute performance permettant une détection plus sensible.

6 - A.B.V.T.

Le dosage de l'azote basique volatil total (A.B.V.T.) et des amines volatiles permet, sur le prélèvement de 200 g de poisson ou de 50 g de viande, de détecter dans un laps de temps de quelques heures l'état d'altération protéique des aliments.

7 - RESIDUS

Les résidus médicamenteux ou minéraux sont recherchés à partir des organes filtres intervenant physiologiquement dans leur élimination comme le foie ou les reins pour les métaux lourds, ou la graisse pour les pesticides organochlorés et P.C.B. Le prélèvement correspond à 1 litre pour les produits liquides ou 100 g pour les produits solides.

En ce qui concerne le dosage du mercure, les espèces pisciaires les plus représentatives sont, dans l'écosystème marin les sélaciens et les poissons plats, en eau douce les brochets et les sandres par effet rémanent sur ces espèces dites "macrophages" (carnassières). Les métaux lourds sont dosés par spectrométrie d'absorption atomique, les pesticides par chromatographie gazeuse.

Les prélèvements de détection de fraudes par rapport à la réglementation sur l'élevage des animaux dont la chair est consommable servent à l'identification de substances anabolisantes et d'antithyroïdiens. Les prélèvements sont constitués de 50 ml d'urine pour les substances

stéroïdiennes, 30 ml pour les β -agonistes. Les recherches et dosages sont réalisés par spectrométrie de masse, couplée à la chromatographie gazeuse. Cette technique permet de détecter l'ensemble des molécules actuellement utilisées. A 20 ml d'urine s'ajoute le prélèvement de la thyroïde, dans les cas de recherche de substances thyrostatiques, lorsque la thyroïde pèse plus de 60 g. L'intégralité de l'emballage des prélèvements est essentiel dans ces domaines, qui peuvent entraîner des actions en justice.

Les prélèvements de chimie alimentaire, en ce qui concerne les résidus, sont réalisés en vue d'enquêtes épidémiologiques pour lesquelles il convient de respecter les périodes prévues correspondant à des variations logiques d'alimentation ou d'environnement des animaux. Seuls quelques laboratoires sont spécifiquement désignés pour réaliser les analyses correspondantes, car elles nécessitent un équipement onéreux.

82