

# Validation de la qualité microbiologique par les opérateurs

**Georges Daube**

Université de Liège

Faculté de Médecine Vétérinaire

Microbiologie des Denrées Alimentaires

Sart-Tilman, bât. B43bis

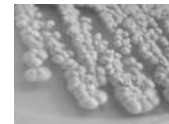
4000 Liège

tél. 04-366.40.15 fax 04-366.40.44

<http://www.mdao.ulg.ac.be>

## Plan de l'exposé

- **1. Introduction**
  - La durée de vie microbiologique d'un aliment
- **2. Validation de la qualité des produits**
- **3. Validation de la sécurité des produits**
  - Historique
  - Règlement CE N°2073/2005
  - Modalités d'application en Belgique
- **4. Etablissement pratique de la durée de vie microbiologique**
- **5. Conclusions**



## Durée de vie microbiologique

- **“Période par rapport à la date d’origine (date fixée par le fabricant) pendant laquelle l’aliment reste dans les limites microbiologiques fixées ”.**

(norme française NF V 01-002)

- **Ces limites sont fixées afin de garantir que, pendant toute la période, l’aliment est propre à la consommation quant aux caractéristiques liées aux micro-organismes, à savoir:**

- La salubrité des aliments (micro-organismes d’altération)
- La sécurité des aliments (micro-organismes pathogènes)

## 2. Validation de la qualité des produits

## Micro-organismes impliqués

### Micro-organismes d'altération

#### ■ Divers organismes peuvent être à l'origine d'altérations des aliments:

- Les moisissures
  - » *Mucor, Rhizopus, Sporotrichum, Penicillium, Geotrichum*
- Les levures
  - » *Zygosaccharomyces, Pichia, Saccharomyces, Candida*
- Les bactéries
  - » Les « Gram négatives »: *Pseudomonas, Shewanella*, entérobactériacées
  - » Les « Gram positives »: *Acinetobacter*, microcoques, bactéries lactiques, *Bacillus, Clostridium*

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 5

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Types d'altérations

#### ■ Divers types d'altérations sont liés à des micro-organismes

- Les altérations d'aspect visuel
  - » Les enduits bactériens ( $>10^8/cm^2$ )
  - » Les moisissures ( $>10^8/cm^2$ )
- Les autres altérations organoleptiques (odeur, goût, texture)
  - » Le catabolisme de l'aliment ( $>10^7/cm^2$ )
    - Dégradation des protéines
    - Dégradation des glucides
    - Dégradation des lipides
  - » Les synthèses microbiennes ( $>10^8/cm^2$ )
    - Polysaccharides, pigments diffusibles ou non



BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 6

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Méthodes d'évaluation des altérations

### ■ Méthodes d'appréciation des dégradations microbiennes

- Méthodes organoleptiques
  - » Chiffrées
  - » Jurys de dégustation
- Méthodes physiques
  - » pH, UV, tendéromètre
- Méthodes chimiques
  - » ABVT, TMAO, dosages
- Méthodes microbiologiques
  - » Adaptées aux flores suspectées

### ■ Limites généralement fixées par le producteur

### ■ De plus en plus exigé par le client (BRC-IFS)

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 7

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Méthode de validation microbiologique

### Tests de vieillissement (NF-V-01-003)

**« Etude de l'évolution dans un aliment de populations de micro-organismes qui y sont habituellement présents, de façon détectable ou non, dans les conditions préconisées de conservation de cet aliment »**

**(NF-V-01-002)**

- Prototypes de denrées périssables réfrigérées et conditionnées
- Etablissement d'une DLC théorique (cfr étapes préalables)
- Sélection des flores à rechercher et à dénombrer
- Consignes de T° de conservation ( $T$  ou  $t_2 > t_1$ )
- Vérification de la DLC théorique sur présérie industrielle (DLC provisoire)
- Vérification de la DLC provisoire sur échantillons issu d'un lot de la production

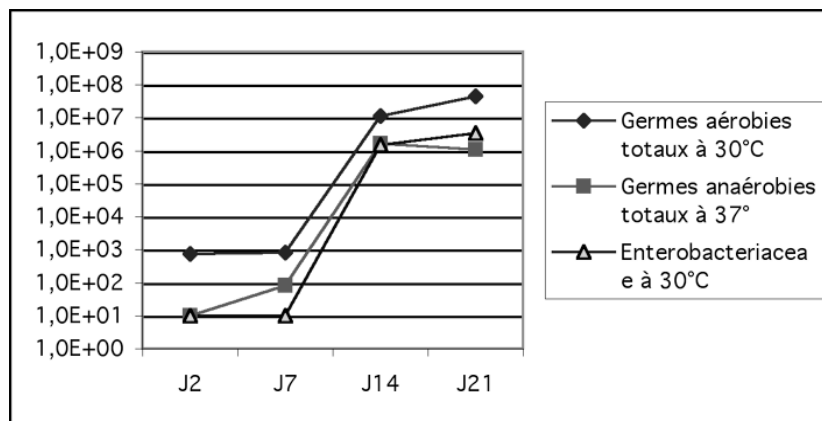
BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 8

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Tests de vieillissement

### Exemple



BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 9

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Tests de vieillissement

\* **Difficultés de ce type d'études :**

- **Standardisation du protocole**
  - **Choix des conditions de conservation**
  - **Respect des conditions de conservation choisies**
  - **Choix des flores pertinentes pour prédire les altérations et/ou les risques pour la santé**
  - **Nécessité de méthodes d'analyse adaptées et quantitatives**
  - **Nombre de répétitions et de lots à tester**
  
- **Expertise pour l'établissement du protocole et pour l'interprétation des résultats**

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 10

Georges.Daube@ulg.ac.be

## **3. Validation de la sécurité des produits**

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 11

Georges.Daube@ulg.ac.be

### **3.1. Historique**

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 12

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Historique

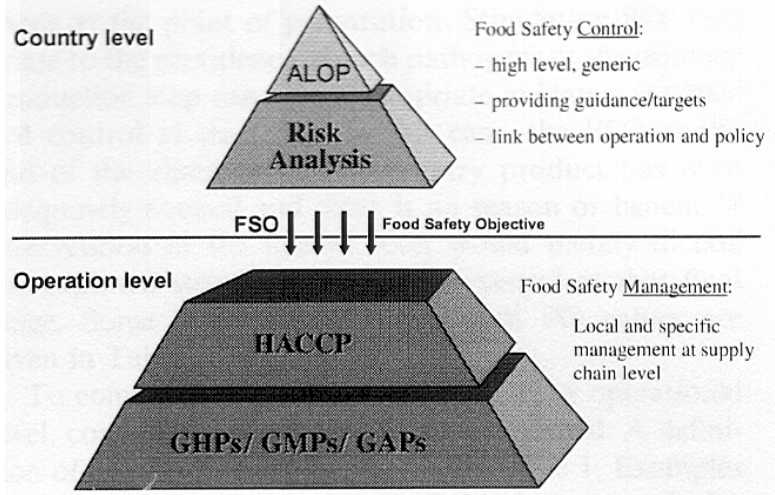


- Années 80:
  - “General Principles of Food Hygiene” du Codex Alimentarius
  - Quelques critères microbiologiques nationaux de produits finis
- Années 90:
  - Système HACCP et lignes directrices du Codex Alimentarius
  - Quelques critères microbiologiques européens de produits finis
- Années 2000:
  - Principes et lignes directrices pour conduire l'évaluation des risques microbiologiques du Codex Alimentarius
  - Principes pour l'établissement et l'application des critères microbiologiques pour les aliments du Codex Alimentarius
  - Nouvelle définition des critères microbiologiques européens (Règlement CE N°2073/2005)

## La fixation des objectifs

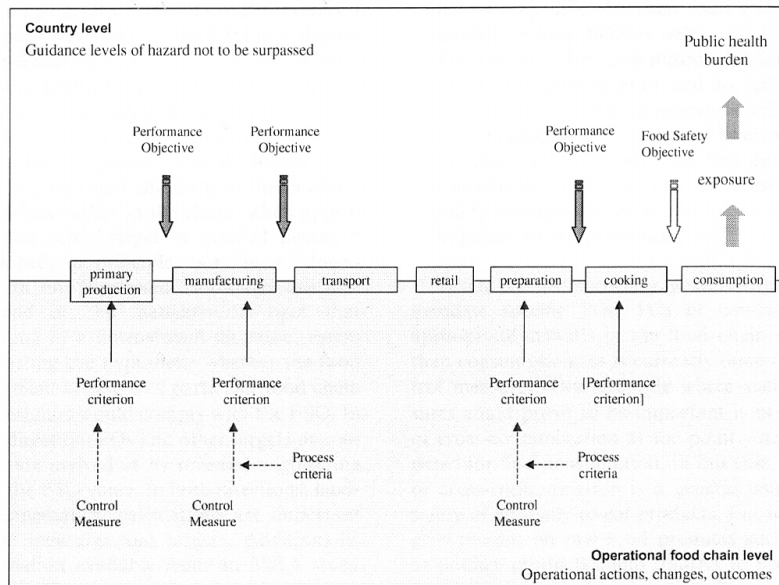
- Les autorités publiques en charge de la Santé publique doivent fixer:
  - Le “niveau acceptable de protection” ou  
“ALOP” “Acceptable Level of Protection” (WTO SPS Agreement)
    - » Ex: moins de 10 décès par an en Belgique liés à *Listeria monocytogenes*
  - Les “objectifs de sécurité alimentaire” ou  
“FSO” “Food Safety Objectives” (Codex Alimentarius)  
en mesure d'atteindre les “ALOP”
    - » Ex: moins de 100 *Listeria monocytogenes* par gramme dans tous les aliments au moment de la consommation

# Le partage des responsabilités



Gorris, 2005

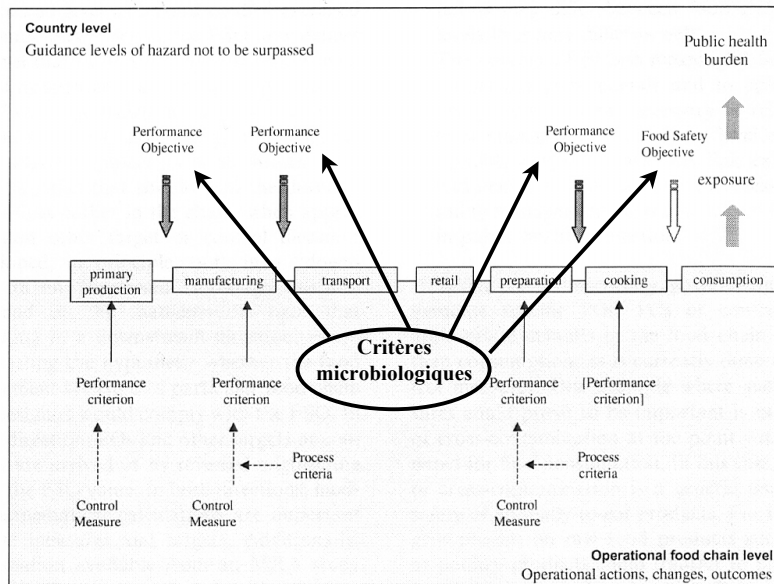
# Le partage des responsabilités



Gorris, 2005  
EFSA, 2006



## Le partage des responsabilités



BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 17

Georges.Daube@ulg.ac.be

## 3.2. Règlement « Critères microbiologiques » (CE N°2073/2005)

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 18

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Le règlement CE N°2073/2005

- Un **critère microbiologique** est “un ensemble d'éléments basé sur
  - l'absence, la présence ou le nombre de micro-organismes, y compris les parasites, et/ou la quantité de leur toxine ou métabolite par unité de masse, de volume, de surface ou de lot
  - définissant l'acceptabilité d'un produit, d'un lot de produit ou d'un processus”.

## Le règlement CE N°2073/2005

La **Commission européenne** avec le soutien de l'Autorité européenne de sécurité alimentaire (**EFSA**) fixe les critères microbiologiques sur base d'évaluations quantitatives des risques

Depuis janvier 2006, **les opérateurs** doivent démontrer leur respect de deux types de critères:

- **Critères d'hygiène des processus (Process Hygiene Criteria)**
  - Critères indicatifs pendant la production sur toute la filière aux étapes-clés
- **Critères de sécurité des aliments (Food Safety Criteria)**
  - Critères impératifs pour les produits mis sur le marché

## Critères d'hygiène des processus (viandes et produits de viandes)

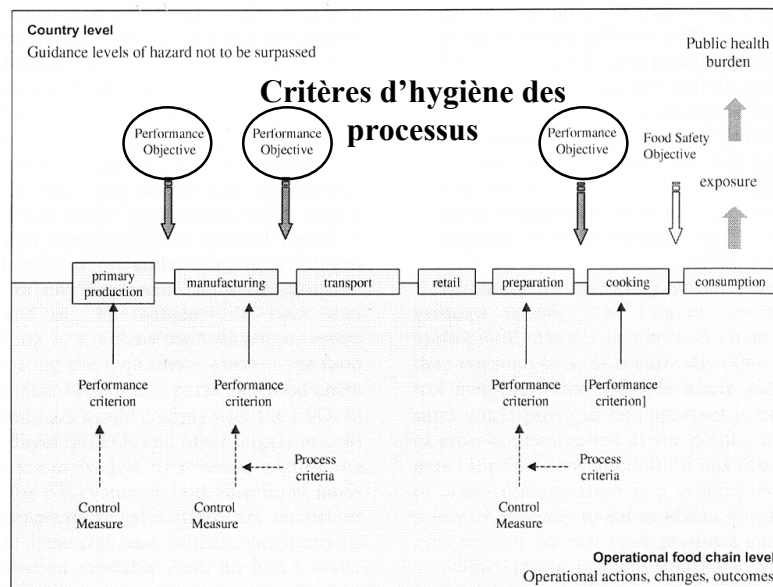
- **Paramètres retenus** (plan d'échantillonnage minimum défini)
  - *Carcasses de bovins, d'équidés, d'ovins, de caprins et de porcs* (germes totaux aérobies, entérobactéries, *Salmonella*)
  - *Viandes hachées, préparations de viande et VSM* (germes totaux, *E. coli*)
- **Mesures à prendre (fin de fabrication ou étape du processus)**
  - Définies pour chaque couple paramètre-denrée
  - Prises de mesures correctives prévues dans les plans HACCP
  - Recherche des causes et éventuellement modification des plans HACCP

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 21

Georges.Daube@ulg.ac.be

## La vérification des plans HACCP



BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 22

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Critères de sécurité des aliments (viandes et produits de viande)

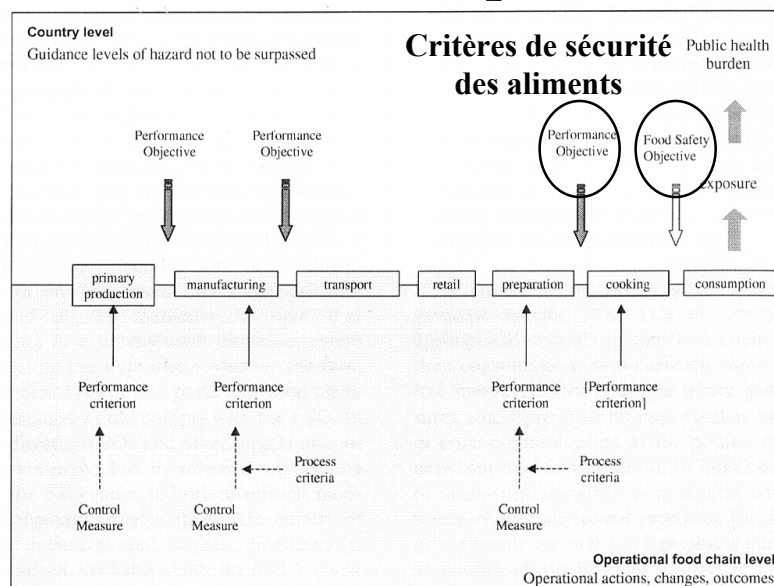
- **Paramètres retenus** (plan d'échantillonnage minimum défini pour les viandes)
  - *Salmonella* (viandes hachées, préparations de viande, VSM, produits à base de viande, gélatine)
  - *Listeria monocytogenes* (produits prêts à consommer)
- **Mesures à prendre (produits sur le marché)**
  - Notification, retrait du marché et rappel, destruction ou retraitement des produits
  - Prises de mesures correctives prévues dans les plans HACCP
  - Recherche des causes et éventuellement modification des plans HACCP
- **Cas particuliers**
  - *Salmonella*, distinction entre les viandes destinées à être consommées crues (A/25 g) et celles destinées à être consommées cuites (A/10 g)
  - *Listeria monocytogenes*, pour toute une série de produits « prêts à consommer », possibilité de déroger aux critères du règlement

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 23

Georges.Daube@ulg.ac.be

## La vérification des plans HACCP



BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 24

Georges.Daube@ulg.ac.be

**Critères pour *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer**  
(règlement CE N°2073/2005)

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes/ toxines, métabolites	Plans d'échantillonnage <sup>1</sup>		Limites <sup>2</sup>		Méthode d'analyse de référence <sup>3</sup>	Stade d'application du critère
		n	c	m	M		
1.1 Denrées alimentaires prêtes à consommer destinées aux nourrissons et denrées alimentaires prêtes à consommer destinées à des fins médicales spéciales <sup>4</sup>	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Absence dans 25 g		EN/ISO 11290-1	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.2 Denrées alimentaires prêtes à consommer pouvant favoriser le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g <sup>5</sup>		EN/ISO 11290-2 <sup>6</sup>	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
		5	0	Absence dans 25 g <sup>7</sup>		EN/ISO 11290-1	Avant que l'opérateur produisant cette denrée alimentaire n'en perde la maîtrise immédiate
1.3 Denrées alimentaires prêtes à consommer ne pouvant pas favoriser le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales <sup>4,8</sup>	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290-2 <sup>6</sup>	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 25

Georges.Daube@ulg.ac.be

**Critères pour *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer**  
(règlement CE N°2073/2005)

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes/ toxines, métabolites	Plans d'échantillonnage <sup>1</sup>		Limites <sup>2</sup>		Méthode d'analyse de référence <sup>3</sup>	Stade d'application du critère
		n	c	m	M		
1.1 Denrées alimentaires prêtes à consommer destinées aux nourrissons et denrées alimentaires prêtes à consommer destinées à des fins médicales spéciales <sup>4</sup>	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Absence dans 25 g		EN/ISO 11290-1	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.2 Denrées alimentaires prêtes à consommer pouvant favoriser le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g <sup>5</sup>		EN/ISO 11290-2 <sup>6</sup>	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
		5	0	Absence dans 25 g <sup>7</sup>		EN/ISO 11290-1	Avant que l'opérateur produisant cette denrée alimentaire n'en perde la maîtrise immédiate
1.3 Denrées alimentaires prêtes à consommer ne pouvant pas favoriser le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales <sup>4,8</sup>	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290-2 <sup>6</sup>	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 26

Georges.Daube@ulg.ac.be

**Critères pour *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer  
(règlement CE N°2073/2005)**

1 n = nombre d'unités constituant l'échantillon; c = nombre d'unités d'échantillonnage donnant des valeurs supérieures à m ou comprises entre m et M.  
2 Pour les points 1.1 à 1.24, m=M  
3 Il y a lieu d'utiliser l'édition la plus récente de la norme.  
4 Des essais périodiques fondés sur ce critère ne sont pas utiles, en temps normal, pour les denrées alimentaires prêtes à consommer suivantes :

- denrées alimentaires ayant fait l'objet d'un traitement thermique ou d'une autre transformation efficace pour éliminer *L. monocytogenes*, lorsque la recontamination n'est pas possible après ce traitement (par exemple les produits traités thermiquement dans leur emballage final)
- fruits et légumes frais, non découpés et non transformés, à l'exception des graines germées
- pain, biscuits et produits similaires
- eaux, boissons non alcoolisées, bière, cidre, vin, boissons spiritueuses en bouteille ou conditionnés et produits similaires
- sucre, miel et confiserie, y compris les produits à base de cacao et de chocolat
- mollusques bivalves vivants

5 Ce critère est applicable lorsque le fabricant est en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant la durée de conservation. L'exploitant peut fixer, pendant le processus, des valeurs suffisamment basses pour garantir que la limite de 100 ufc ne sera pas dépassée au terme de la durée de conservation.

6 1 ml d'inoculum est déposé sur une boîte de Petri d'un diamètre de 140 mm ou sur trois boîtes de Petri d'un diamètre de 90 mm.

7 Ce critère est applicable aux produits avant qu'ils n'échappent à la maîtrise immédiate de l'exploitant du secteur alimentaire, lorsque celui-ci n'est pas en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant toute la durée de conservation.

8 Les produits pour lesquels  $\text{pH} \leq 4,4$  ou  $a_w \leq 0,92$ , les produits pour lesquels  $\text{pH} \leq 5,0$  et  $a_w \leq 0,94$ , les produits à durée de conservation inférieure à 5 jours appartiennent automatiquement à cette catégorie. D'autres genres de produits peuvent aussi appartenir à cette catégorie, sous réserve d'une justification scientifique.

- **Critères « à la carte » après démonstration expérimentale pour les produits permettant la multiplication de *Listeria monocytogenes***
- **Demande une nouvelle expertise des entreprises et des autorités de contrôles**

### **3.3. Modalités pour la vérification de la sécurité microbiologique en Belgique**

## Types de critères à prendre en compte

### 1. Critères du règlement CE N°2073/2005

Tests de croissance ou challenge-test (modalités pour l'AFSCA)

### 2. Critères belges additionnels (sur avis du Conseil supérieur d'hygiène)

Projet d'Arrêté royal (*Campylobacter*, *E. coli* O157 entérohémorragiques, *Bacillus cereus*)

### 3. Limites d'action de l'AFSCA (sur avis de son Comité scientifique)

Programmations de l'AFSCA

### 4. Critères internes

Vérification du plan HACCP (paramètres additionnels résultant de l'analyse des dangers ou des modalités de vérification)

Tests de vieillissement accélérés

## Types de critères à prendre en compte

### 1. Critères du règlement CE N°2073/2005

Tests de croissance ou challenge-test (modalités pour l'AFSCA)

### 2. Critères belges additionnels (sur avis du Conseil supérieur d'hygiène)

Projet d'Arrêté royal (*Campylobacter*, *E. coli* O157 entérohémorragiques, *Bacillus cereus*)

### 3. Limites d'action de l'AFSCA (sur avis de son Comité scientifique)

Programmations de l'AFSCA

### 4. Critères internes

Vérification du plan HACCP (paramètres additionnels résultant de l'analyse des dangers ou des modalités de vérification)

Tests de vieillissement accélérés

## Tests de croissance ou « Challenge Tests »

« Evaluation de la cinétique de croissance ou de survie d'un germe précis dans ou sur un aliment donné après inoculation artificielle à un niveau prédéterminé et durant la conservation dans des conditions contrôlées pendant une durée prédéfinie. »

Utilisés plus particulièrement lorsque l'on étudie des micro-organismes pathogènes qui ne sont pas détectables de façon habituelle dans l'aliment

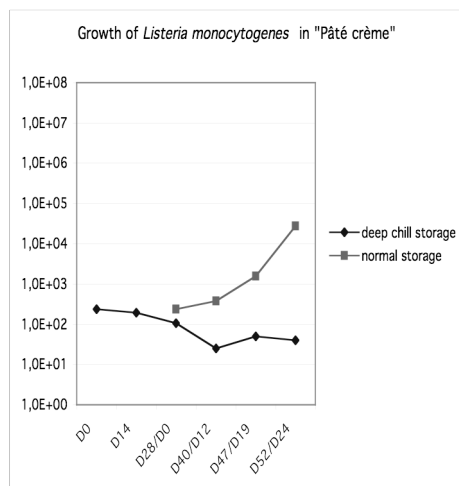
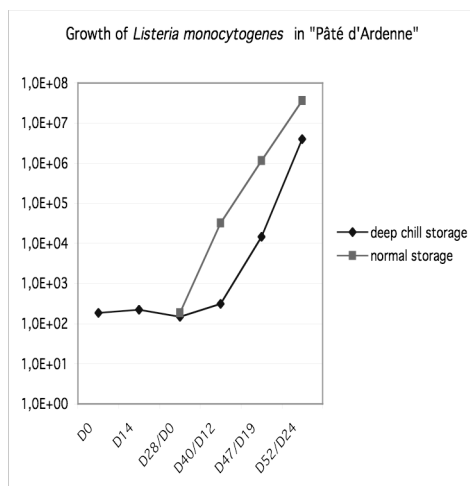
BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 31

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Tests de croissance ou « Challenge-Tests »

### Exemples



BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 32

Georges.Daube@ulg.ac.be



**Modalités des tests de croissance pour *Listeria monocytogenes***  
 (en application du règlement CE N°2073/2005 et selon l'avis 09-2006 du comité scientifique de l'AFSCA)

**Catégories d'aliments**

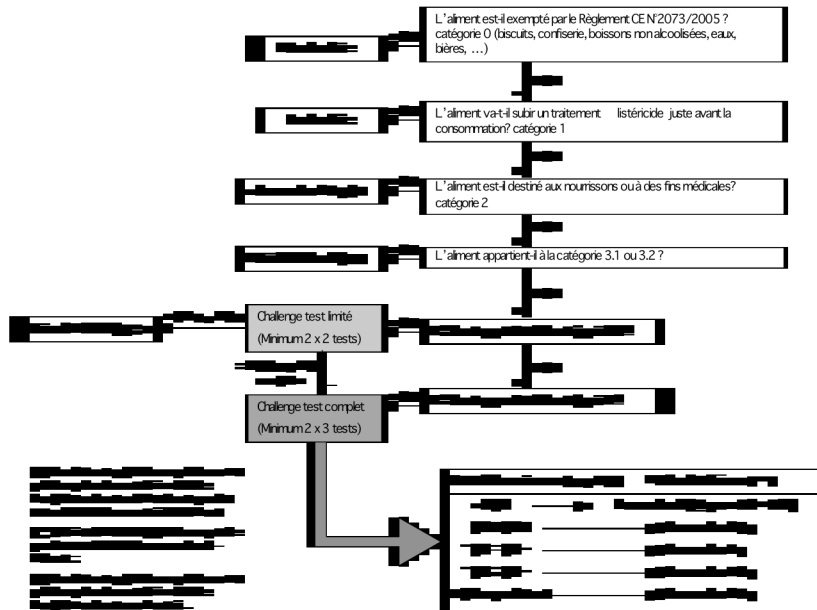
catégorie 0	Aliments exemptés de challenge test par le règlement (CE) n° 2073/2005. - produits traités thermiquement dans leur emballage final, - fruits et légumes frais, non découpés et non transformés, à l'exception des graines germées, - pain, biscuits et produits similaires, - eaux, boissons non alcoolisées, bière, cidre, vin, boissons spiritueuses, - sucre, miel, et confiserie, y compris les produits à base de cacao et de chocolat, - mollusques bivalves vivants.
catégorie 1	Aliments qui vont subir un procédé assurant une destruction de <i>L. monocytogenes</i> suffisante au stade de leur consommation
catégorie 2	Denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées aux nourrissons et denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées à des fins médicales.
catégorie 3	3.1 Les aliments dont les propriétés physico-chimiques permettent d'exclure la multiplication de <i>L. monocytogenes</i> , c'est-à-dire : - $pH \leq 4,4$ (ou $pH \leq 4,5$ si l'acidification est obtenue avec de l'acide lactique ou de l'acide acétique) ou $a_w \leq 0,92$ ou $pH \leq 5,0$ et $a_w \leq 0,94$ ; - produit congelé ou surgelé. 3.2 Les aliments qui présentent une durée de conservation inférieure à 5 jours 3.3 Les aliments dont l'absence de croissance est suggérée par des données scientifiques confortées par un challenge test limité de vérification.
catégorie 4	Aliments prêts à être consommés et dans lesquels <i>L. monocytogenes</i> peut se multiplier.

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 33

Georges.Daube@ulg.ac.be

**Détermination du critère à suivre**



BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 34

Georges.Daube@ulg.ac.be

**Modalités des tests de croissance pour *Listeria monocytogenes***  
 (en application du règlement CE N°2073/2005 et selon l'avis 09-2006 du comité scientifique de l'AFSCA)

**Protocole à suivre**

- **Inoculation de l'aliment**
  - **Choix des souches:** min. 2 souches isolées d'aliments et caractérisées, utilisées en mélange
  - **Préparation de l'inoculum:** culture en phase stationnaire, entre 10 et 100 ufc/g
  - **Inoculation:** surface ou profondeur/surface avec faible volume d'inoculum
- **Test de croissance**
  - **Conservation de l'aliment:** conditionnement et température similaire à produit commercial
  - **Nombre de lots:** min. 2 lots (test limité) ou min. 3 lots (test complet)
  - **Nombre de répétitions par lot:** min. 2 unités par lot
- **Essais microbiologiques**
  - **Méthode d'analyse:** méthode reconnue par l'AFSCA, seuil 10 ufc/g
  - **Présentation des résultats:** présentation et calculs sur des résultats transformés en log<sub>10</sub>

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 35

Georges.Daube@ulg.ac.be

**Modalités des tests de croissance pour *Listeria monocytogenes***  
 (en application du règlement CE N°2073/2005 et selon l'avis 09-2006 du comité scientifique de l'AFSCA)

**Interprétation des résultats**

Lot	Unité	Concentration (ufc/g)	Concentration (log <sub>10</sub> ufc/g)	Différence la plus grande observée (log <sub>10</sub> ufc/g)
1	■	100	2,00	1,00
	■	100	2,00	
2	■	100	2,00	1,00
	■	100	2,00	
3	■	100	2,00	1,00
	■	100	2,00	

**Report des résultats de dénombrement dans le tableau**

Différence la plus grande observée log <sub>10</sub> (ufc/g)	Valeur de tolérance le jour 0
Entre -1,00 et 0,00	Absence dans 0.01 g ou 100 cfu/g
Entre 0,00 et 0,99	Absence dans 0.1 g
Entre 1,00 et 1,99	Absence dans 1 g
Entre 2,00 et 2,99	Absence dans in 10 g
Au delà de 2,99	Absence dans 25 g

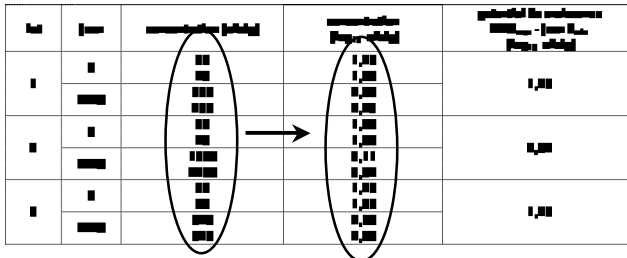
BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 36

Georges.Daube@ulg.ac.be

**Modalités des tests de croissance pour *Listeria monocytogenes***  
 (en application du règlement CE N°2073/2005 et selon l'avis 09-2006 du comité scientifique de l'AFSCA)

**Interprétation des résultats ou détermination du potentiel de croissance**

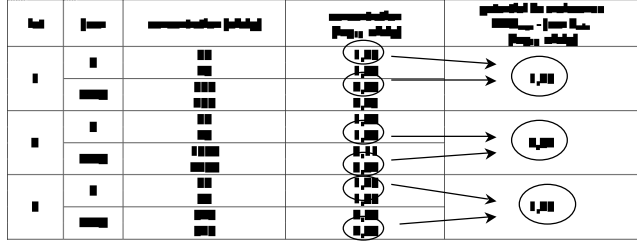


**Transformation  
des résultats  
de dénombrement  
en log10**

Différence la plus grande observée log10(ufc/g)	Valeur de tolérance le jour 0
Entre -1,00 et 0,00	Absence dans 0.01 g ou 100 cfu/g
Entre 0,00 et 0,99	Absence dans 0.1 g
Entre 1,00 et 1,99	Absence dans 1 g
Entre 2,00 et 2,99	Absence dans in 10 g
Au delà de 2,99	Absence dans 25 g

**Modalités des tests de croissance pour *Listeria monocytogenes***  
 (en application du règlement CE N°2073/2005 et selon l'avis 09-2006 du comité scientifique de l'AFSCA)

**Interprétation des résultats ou détermination du potentiel de croissance**



**Calcul des plus  
grandes différences  
(DLC-J0)**

Différence la plus grande observée log10(ufc/g)	Valeur de tolérance le jour 0
Entre -1,00 et 0,00	Absence dans 0.01 g ou 100 cfu/g
Entre 0,00 et 0,99	Absence dans 0.1 g
Entre 1,00 et 1,99	Absence dans 1 g
Entre 2,00 et 2,99	Absence dans in 10 g
Au delà de 2,99	Absence dans 25 g

### Modalités des tests de croissance pour *Listeria monocytogenes* (en application du règlement CE N°2073/2005 et selon l'avis 09-2006 du comité scientifique de l'AFSCA)

#### Interprétation des résultats ou détermination du potentiel de croissance

Test	Présence	concentration (ufc/g)	concentration (log <sub>10</sub> ufc/g)	potentiel de croissance (log <sub>10</sub> ufc/g - log <sub>10</sub> ufc/g)
■	■	100	2,00	1,00
	■	100	2,00	
	■	100	2,00	
■	■	100	2,00	1,00
	■	100	2,00	
	■	100	2,00	
■	■	100	2,00	1,00
	■	100	2,00	
	■	100	2,00	

**Choix du critère à J0 en fonction de la plus grande différence observée**

Différence la plus grande observée log <sub>10</sub> (ufc/g)	Valeur de tolérance le jour 0
Entre -1,00 et 0,00	Absence dans 0.01 g ou 100 cfu/g
Entre 0,00 et 0,99	Absence dans 0.1 g
Entre 1,00 et 1,99	Absence dans 1 g
Entre 2,00 et 2,99	Absence dans in 10 g
Au delà de 2,99	Absence dans 25 g

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 39

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Tests de croissance ou « Challenge-Tests »

- \* **Difficultés de ce type d'études :**
  - **Biosécurité**
    - Manipulation et inoculation de cultures de germes pathogènes
  - **Standardisation du protocole**
    - Choix des souches
    - Préparation de l'inoculum (concentration, état physiologique)
    - Contrôle des conditions d'inoculation, de conditionnement et de conservation
    - Nécessité de méthodes d'analyse, si possible, quantitatives les plus sensibles possible
    - Nombre de répétitions et de lots à tester
  - **Expertise pour l'établissement du protocole et pour l'interprétation des résultats**

**D'où recours à un laboratoire accrédité expérimenté**

BAMST 2006 Gembloux

Validation par les opérateurs - 40

Georges.Daube@ulg.ac.be

## Types de critères à prendre en compte

### 1. Critères du règlement CE N°2073/2005

Tests de croissance ou challenge-test (modalités pour l'AFSCA)

### 2. Critères belges additionnels (sur avis du Conseil supérieur d'hygiène)

Projet d'Arrêté royal (*Campylobacter*, *E. coli* O157 entérohémorragiques, *Bacillus cereus*)

### 3. Limites d'action de l'AFSCA (sur avis de son Comité scientifique)

Programmations de l'AFSCA

### 4. Critères internes

Vérification du plan HACCP (paramètres additionnels résultant de l'analyse des dangers ou des modalités de vérification)

Tests de vieillissement accélérés

## Tests de vieillissement accéléré

« Etude de l'évolution dans un aliment de populations de micro-organismes qui y sont habituellement présents, de façon détectable ou non, dans des conditions favorisant les populations étudiées »

- Modélisation d'un accident de conservation chez le consommateur
- Denrées périssables réfrigérées
- Par exemple par étuvage de 18 à 24 h. à 37 °C
- Sélection des flores d'intérêt (pathogène et/ou altérante, toxines)
- Bilans microbiologiques initiaux et finaux
- Interprétation des résultats

## Tests de vieillissement accéléré

Exemple

### Modification de la recette d'un plat préparé cuisiné

■ A la DLC: durée de vie 1/3 à 4 °C et 2/3 à 8°C

<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Entérobactéries
< 10 cfu/g	< 10 cfu/g	3. 10 <sup>2</sup> cfu/g

■ Étuvage: 18 heures à 37 °C

<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Entérobactéries
7. 10 <sup>7</sup> cfu/g	4. 10 <sup>5</sup> cfu/g	3. 10 <sup>4</sup> cfu/g

**D'où besoin d'adapter la recette pour limiter le risque**

## 4. Etablissement pratique de la durée de vie microbiologique d'un aliment

## Etapes de validation par les opérateurs

- **1. Connaissance du produit fini et de son devenir**
  - Composition (analyses, tables, littérature)
  - Flores altérante, pathogène ou technologique attendues (analyses, littérature, ICMSF 6)
  - Paramètres physico-chimiques (analyses, mesures, littérature)
  - Tenir compte
    - » de l'hétérogénéité des produits,
    - » de l'utilisation attendue,
    - » de la maîtrise attendue de la chaîne du froid
- **2. Choisir et fixer les seuils acceptables pour les germes pathogènes et altérants (législation, AFSCA, ICMSF 6, littérature)**

## Etapes de validation par les opérateurs

- **3. Estimer les évolutions microbiologiques potentielles en fonction des alternatives de conservation**
  - Germes altérants ou technologiques (Microbiologie prédictive)
  - Germes pathogènes (ICMSF 5, Microbiologie prédictive)
- **4. S'assurer que les conditions de conservation choisies donnent des garanties suffisantes (marges de sécurité) en terme de risque pour la santé publique**

## Etapes de validation par les opérateurs

- **5. Valider expérimentalement les dates limites de consommation et les conditions de conservation pour les produits périssables**
  - Tests de vieillissement
- **6. Évaluer les risques potentiels et éventuellement adapter les critères microbiologiques en sortie de production (*Listeria monocytogenes*) pour les produits périssables**
  - Tests de croissance ou « Challenge-test » ou épreuve microbiologique
  - Tests de vieillissement accéléré
- **6. Vérifier la maîtrise en réalisant des analyses microbiologiques aux points-clé du processus et sur les produits finis**

## 5. Conclusions

- **Arsenal normatif et légal complètement renouvelé basé sur**
  - des obligations de résultats plutôt que de moyens
  - La responsabilité des opérateurs
  - L'auto-contrôle et la notification par les opérateurs:
    - » HACCP généralisé avec preuve de la maîtrise (vérification analytique)
    - » Validation des DLC (dates limites de consommation)
    - » Fixation de critères microbiologiques validés par les opérateurs
- **Besoin de structures d'encadrement pour aider les opérateurs**
- **Besoin de mises à jour régulières en fonction du progrès des connaissances**



## Bibliographie

- **Codex alimentarius 2004. Proposed draft guidelines for the validation of food hygiene control measures.**
- **Règlement CE N°2073/2005 de la Commission concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.**
- **Avis 09-2006 du comité scientifique de l'AFSCA ([www.afsca.be](http://www.afsca.be))**
- **EFSA, 2006. Draft opinion on microbiological testing, criteria and other objectives (EFSA-Q-2005-296).**