



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE

<p><b>Direction générale de l'alimentation</b></p> <p>Sous-direction de la Sécurité Sanitaire des Aliments</p> <p><b>Bureau de la Surveillance des Denrées Alimentaires et des Alertes Sanitaires</b></p> <p>Adresse : 251, rue de Vaugirard 75 732 PARIS CEDEX 15</p> <p>Dossier suivi par : Tél. : 01.49.55.84.94 Courriel institutionnel : bsdaas.sdssa.dgal@agriculture.gouv.fr Réf. interne : NSrésultats_analyses_microbio.doc</p>	<p><b>NOTE DE SERVICE</b></p> <p><b>DGAL/SDSSA/N2008-8009</b></p> <p><b>Date: 14 janvier 2008</b></p> <p>Classement : SSA-373.1</p>
--	---

Date de mise en application : Immédiate  
Abroge et remplace : Note de service DGAL/SDHA/N2001-8090 du 27 juin 2001  
Note de service DGAL/SDSSA/N2006-8048 du 20 février 2006  
Date limite de réponse :  
📎 Nombre d'annexes : 5  
Degré et période de confidentialité : Tout public

**Objet : Précisions relatives aux modalités de mise en œuvre des analyses microbiologiques de denrées alimentaires et d'exploitation des résultats.**

**Références :**

- Règlement (CE) n°178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002, établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires.
- Règlement (CE) n°852/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires.
- Règlement (CE) n°882/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif aux contrôles officiels effectués pour s'assurer de la conformité avec la législation sur les aliments pour animaux et les denrées alimentaires et avec les dispositions relatives à la santé animale et au bien-être des animaux.
- Règlement (CE) n°2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.
- Décret n°2006-7 du 4 janvier 2006 relatif aux laboratoires nationaux de référence, ainsi qu'à l'agrément et à la reconnaissance des laboratoires d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux, et modifiant le code rural.

## Résumé :

Cette note de service précise les aspects du dispositif réglementaire du « Paquet Hygiène » portant plus spécifiquement sur les analyses microbiologiques de denrées alimentaires. La sécurité sanitaire des aliments est le résultat de plusieurs facteurs. Les critères microbiologiques ne doivent être considérés qu'associés aux autres aspects de la législation alimentaire, en particulier le plan de maîtrise sanitaire propre à l'établissement et conçu selon les principes HACCP. Les contrôles officiels sont pour leur part destinés à vérifier que les exploitants du secteur alimentaire sont en conformité avec les exigences réglementaires, qui intègrent entre autres les obligations en la matière.

Après avoir rappelé le contexte et les principaux objectifs recherchés lors de la mise en œuvre d'analyses microbiologiques, dans le cadre d'auto-contrôles ou de contrôles officiels, sont données des lignes directrices destinées à expliquer comment ces analyses s'intègrent dans le plan de maîtrise sanitaire d'un établissement.

Les intérêts et les limites des critères microbiologiques et des plans d'échantillonnage sont explicités. Les auto-contrôles réalisés par les professionnels doivent avant tout s'intégrer dans une démarche préventive de maîtrise de la sécurité sanitaire et de la salubrité de leurs fabrications, et donc permettre la validation de leur process. Les modalités de réalisation des analyses sont précisées quant à l'aspect méthodes et au choix des laboratoires.

**Mots-clés :** Paquet hygiène – denrée alimentaire – microbiologie – échantillonnage – analyse – critère microbiologique

Destinataires	
Pour exécution : - DDSV	Pour information : - IG VIR - BNEVP - ENV - ENSV - AFSSA - INFOMA - DGCCRF - DGS - AFNOR - Laboratoires départementaux d'analyses

## 1. Contexte réglementaire

Les analyses microbiologiques de denrées alimentaires sont un des outils disponibles pour satisfaire aux exigences réglementaires du « Paquet Hygiène ». Elles ne doivent pas être considérées de manière indépendante, mais toujours être intégrées dans une démarche globale de maîtrise des dangers<sup>1</sup>. Les dispositions réglementaires en microbiologie sont étroitement liées à certains principes généraux du « Paquet Hygiène ». Différents articles des **règlements (CE) n°178/2002** et **n°852/2004**, répertoriés en annexe I, sont à prendre en compte pour savoir dans quelles circonstances il convient d'avoir recours à des analyses, selon quelles modalités, et comment interpréter les résultats.

Le **règlement (CE) n°2073/2005** établit les critères microbiologiques applicables à des catégories de denrées données pour certains micro-organismes, et les règles d'application que les exploitants du secteur alimentaire doivent observer lorsqu'ils mettent en œuvre certaines mesures d'hygiène générales visées à l'article 4 du règlement (CE) n°852/2004, telles que le respect de ces critères microbiologiques, ainsi que le prélèvement d'échantillons et la réalisation d'analyses (cf. annexe I). Les critères microbiologiques fournissent une orientation sur l'acceptabilité des denrées alimentaires et de leurs procédés de fabrication, de manutention et de distribution. L'utilisation de ces critères doit faire partie intégrante de la mise en œuvre des procédures fondées sur les principes HACCP et les autres mesures de maîtrise de l'hygiène.

Selon la définition du règlement (CE) n°2073/2005, un critère microbiologique définit « l'acceptabilité d'un produit, d'un lot de denrées alimentaires ou d'un procédé, sur la base de l'absence, de la présence ou du nombre de micro-organismes, et/ou de la quantité de leurs toxines/métabolites, par unité(s) de masse, volume, surface ou lot ». On distingue :

- les **critères de sécurité des denrées alimentaires**, qui définissent l'**acceptabilité d'un produit ou d'un lot** de denrées alimentaires, applicables aux produits mis sur le marché<sup>2</sup> ; le dépassement des valeurs fixées conduit à interdire la commercialisation ou à procéder au retrait des denrées concernées ;
- les **critères d'hygiène des procédés**, qui fixent une **valeur indicative** de contamination dont le dépassement exige des mesures correctives destinées à maintenir l'hygiène du procédé conformément à la législation sur les denrées alimentaires ; ils indiquent l'**acceptabilité du fonctionnement du procédé de production** et ne sont pas applicables aux produits mis sur le marché.

Conformément aux **principes d'élaboration du Codex Alimentarius**<sup>3</sup>, chaque critère microbiologique comporte un ensemble d'éléments indissociables qui sont les suivants :

- micro-organisme concerné,
- limites fixées (limite m de concentration acceptable et, pour les plans d'échantillonnage à trois classes, limite M de concentration inacceptable),
- méthode d'analyse,
- plan d'échantillonnage, avec :
  - o n, nombre d'unités constituant l'échantillon,
  - o et c, nombre maximal de résultats pouvant présenter, dans un plan à deux classes, soit une valeur supérieure à la limite m, soit indiquer une présence du micro-organisme, ou, dans un plan à trois classes, des valeurs comprises entre les limites m et M,
- catégorie de denrées alimentaires à laquelle il s'applique,
- stade d'application,
- conduite à tenir en cas de résultats non satisfaisants.

<sup>1</sup> Définition du danger (règlement (CE) n°178/2002) : « un agent biologique, chimique ou physique, présent dans les denrées alimentaires ou les aliments pour animaux, ou un état de ces denrées alimentaires ou aliments pour animaux, pouvant avoir un effet néfaste sur la santé ».

<sup>2</sup> Dans le règlement (CE) n°178/2002, la « mise sur le marché » est définie comme « la détention de denrées alimentaires ou d'aliments pour animaux en vue de leur vente, y compris l'offre en vue de la vente ou toute autre forme de cession, à titre gratuit ou onéreux, ainsi que la vente, la distribution et les autres formes de cession proprement dites ».

<sup>3</sup> Document CAC/GL 21-1997 : « Principes régissant l'établissement et l'application de critères microbiologiques pour les aliments ».

## 2. Le plan de maîtrise sanitaire (PMS)

### 2.1. Définition

Le plan de maîtrise sanitaire est un outil mis en place par les professionnels pour atteindre les objectifs de sécurité des aliments définis dans les règlements communautaires du « Paquet Hygiène ». Il décrit les mesures prises par l'établissement pour assurer l'hygiène et la sécurité sanitaire de ses productions vis-à-vis des dangers non seulement biologiques, mais aussi physiques et chimiques.

Il comprend les éléments nécessaires à la mise en place et les preuves de l'application :

- des procédures fondées sur les principes de l'HACCP, en particulier les conclusions de l'analyse des dangers conduite individuellement (entreprise) ou collectivement (GBPH),
- des bonnes pratiques d'hygiène ou pré-requis (plan de nettoyage et désinfection, plan de lutte contre les nuisibles, plan de formation du personnel...),
- de la mise en place d'un système de traçabilité,
- de la gestion des non conformités (procédure de retrait / rappel).

### 2.2. Place de l'analyse microbiologique dans le plan de maîtrise sanitaire

Le recours à des analyses microbiologiques est en premier lieu de la responsabilité du professionnel. Il s'agit de conduire une analyse pertinente des dangers dans le cadre du PMS, qui permet d'inclure la réalisation d'analyses microbiologiques. On parle alors d'auto-contrôles, effectués à la demande et sous la responsabilité des professionnels.

L'article 4 du règlement (CE) n°2073/2005 précise que les exploitants du secteur alimentaire procèdent, le cas échéant, à des essais correspondants aux critères microbiologiques réglementaires « lorsqu'ils valident ou vérifient le bon fonctionnement de leurs procédures fondées sur les principes HACCP ou sur les bonnes pratiques d'hygiène ».

#### **Critères microbiologiques et sécurité sanitaire des denrées alimentaires**

- Il ne faut pas confondre la liste des dangers, à définir dans le cadre du PMS, et les critères présents dans le règlement. L'absence de critère réglementaire ne signifie pas absence de danger à prendre en compte.
- L'appréciation du danger doit se faire sur la base de l'ensemble de l'article 14 du règlement (CE) n°178/2002.
- La première obligation est bien de disposer d'un PMS, dans lequel sont inscrites des mesures de validation et de vérification. Le règlement (CE) n°2073/2005 « critères microbiologiques » est un des outils dont dispose l'exploitant pour mettre en place ces mesures.
- Dans la majorité des cas, l'existence de critères réglementaires impose au professionnel de les prendre en compte *a minima* dans son plan de maîtrise sanitaire.

Le plan d'auto-contrôles, défini par un exploitant du secteur alimentaire, doit s'intégrer dans une **démarche préventive de maîtrise** de la sécurité sanitaire et de la salubrité de ses fabrications, et **ne doit pas se limiter à des contrôles *a posteriori* sur les produits finis** pour s'assurer du respect des critères réglementaires du règlement (CE) n°2073/2005. Des critères complémentaires pour d'autres micro-organismes, ou des limites critiques de CCP<sup>4</sup>, sont souvent nécessaires pour prendre en compte, dans un contexte particulier, tous les facteurs permettant la maîtrise de l'hygiène des aliments aux différentes étapes de la chaîne alimentaire. Les guides de

<sup>4</sup> Dans la majorité des cas, les analyses microbiologiques conventionnelles ne sont pas des mesures de maîtrise pertinentes pour assurer la surveillance des CCP et/ou des PRPo (programmes prérequis opérationnels). En effet, sauf si des méthodes rapides sont utilisées, compte tenu des délais d'obtention des résultats, la mise en œuvre d'actions correctives en cas de dépassement des valeurs cibles ou des limites critiques ne peut être réalisée de façon suffisamment précoce. Les paramètres, notamment visuels ou physico-chimiques, permettant une surveillance « en ligne », doivent dans la mesure du possible être préférés pour permettre une action de maîtrise, si possible préventive, du danger concerné.

bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP (GBPH) élaborés par les fédérations professionnelles, prévus par le règlement (CE) n°852/2004, incluent des données qui peuvent être utilisées par les exploitants du secteur concerné. Des documents de référence concernant les flores microbiennes utilisables en tant qu'indicateurs d'hygiène des procédés sont disponibles dans l'avis de l'AFSSA publié le 18 janvier 2007 sous la référence « saisine n°2006-SA-0215 ». Dans l'attente de la validation et de la publication des GBPH, l'AFSSA a été saisie, le 12 juillet 2006 puis le 1<sup>er</sup> juin 2007, sur le dossier relatif à des références applicables aux denrées alimentaires en tant que critères indicateurs d'hygiène des procédés, en complément de ceux figurant dans le règlement (CE) n°2073/2005. L'avis de l'AFSSA qui sera publié en conséquence permettra aux opérateurs de disposer de références harmonisées qui pourront être reprises sous forme de critères d'hygiène des procédés dans leurs plans de maîtrise sanitaire.

### 2.3. La flexibilité

Le règlement (CE) n°2073/2005 laisse la latitude aux professionnels, dans le cadre de leur plan de maîtrise sanitaire, de définir des procédures d'échantillonnage ou des méthodes d'essai différentes de celles fixées dans le règlement, et, dans le cas des critères d'hygiène des procédés, de choisir d'autres micro-organismes et limites. L'exploitant doit néanmoins être en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que les procédures mises en œuvre fournissent des garanties au moins équivalentes à celles prévues par les critères réglementaires.

Cette notion de flexibilité est retrouvée en différents points du règlement « critères microbiologiques », répertoriés en annexe II. Des notes de service sectorielles peuvent préciser les modalités de mise en œuvre de cette flexibilité.

## **3. Les critères microbiologiques**

### Intérêts et limites

- Satisfaire aux critères microbiologiques offre l'**assurance que certains agents pathogènes ne sont pas présents à des niveaux de contamination élevés, mais ne peut pas garantir l'absence de ces pathogènes dans les aliments.** Un avantage lié à l'établissement de critères de sécurité pour les micro-organismes pathogènes est de fournir des standards harmonisés et communs pour les autorités et les professionnels, aussi bien au sein de l'Union européenne que pour les produits importés de pays tiers.
- La **conformité aux critères de sécurité et le respect des dispositions du règlement (CE) n°2073/2005** (y compris celles relatives à la flexibilité) est une **obligation** pour les exploitants du secteur alimentaire.
- La seule pratique de contrôles microbiologiques peut néanmoins conduire à une **fausse impression de sécurité** du fait des limites statistiques liées aux plans d'échantillonnage, notamment au cas où un danger présente un risque inacceptable à des concentrations faibles et/ou à des prévalences (fréquences de contamination) basses ou variables.

### 3.1. Limites des plans d'échantillonnage

Selon les principes de l'échantillonnage, le **choix d'un plan d'échantillonnage ne peut pas être réalisé a priori** dans la mesure où **son efficacité dépend du taux d'unités non conformes** dans le lot de production contrôlé.

Il convient de garder en mémoire que, pour un plan d'échantillonnage quel qu'il soit, il y a un **risque d'accepter un lot non satisfaisant** (contenant des unités non conformes), ce risque étant d'autant plus élevé que la proportion d'unités non conformes (unités contaminées à des taux inacceptables) dans le lot est faible.

Un plan à deux classes de type  $[n=5, c=0]$  peut constituer une référence et une approche satisfaisantes si l'on considère que le procédé est maîtrisé, c'est-à-dire que les plans de contrôle fondés sur les principes HACCP, ou *a minima* sur les GBPH, existent, sont validés et effectivement appliqués<sup>5</sup>. Cependant, l'efficacité d'un tel plan d'échantillonnage reste limitée (cf. annexe III), surtout pour prendre une décision sur l'acceptabilité d'un lot. Plus le nombre d'unités testées augmente, plus la probabilité d'accepter un lot contenant des unités non conformes diminue, cette probabilité étant d'autant plus faible que le pourcentage d'unités défectueuses présentes dans le lot est élevé. Des exemples sont donnés en annexe III pour différents plans d'échantillonnage. Ainsi, la probabilité d'accepter un lot présentant un taux de non-conformité de 5% atteint 77% avec  $[n=5, c=0]$ . Elle passe à 95% quand le taux de non-conformité n'est plus que de 1%.

Lorsque l'on souhaite augmenter la probabilité de détecter une unité non conforme, il faut avoir recours à des plans renforcés, définis à partir des courbes d'efficacité statistique (cf. annexe IV). Néanmoins, si l'on ne veut pas risquer d'accepter des lots contenant des unités non conformes, même en faible proportion, il faut tester un grand nombre d'unités, au moins supérieur à 30, ce qui n'est souvent pas compatible avec la réalité du terrain.

Compte tenu de ces limites, les critères de sécurité du règlement (CE) n°2073/2005 ont été définis uniquement pour les couples pathogène/aliment pour lesquels les analyses de produits mis sur le marché étaient considérées comme apportant une contribution efficace en termes de santé publique. Cela ne signifie pas que **pour d'autres combinaisons matrices / agents pathogènes**, il n'existe pas de risque pour la santé, mais dans un processus d'harmonisation communautaire, **la définition au niveau européen d'un critère microbiologique n'a pas été considérée comme un moyen pertinent pour améliorer la sécurité sanitaire des aliments et la protection des consommateurs**. Ceci ne dispense pas les exploitants de prendre en compte, lors de l'élaboration de leur plan d'auto-contrôles, l'ensemble des dangers microbiologiques identifiés pour les denrées alimentaires qui les concernent.

### 3.2. L'approche préventive

Les analyses microbiologiques destinées à vérifier la conformité aux critères microbiologiques existants ne sont en aucun cas suffisantes pour garantir la sécurité sanitaire des aliments et il n'est pas possible d'évaluer l'impact que peut avoir un critère microbiologique de sécurité sur la protection de la santé publique.

Il s'agit dans tous les cas de **mettre en place une approche préventive, seule capable de maîtriser l'ensemble des paramètres susceptibles d'intervenir le long de la chaîne alimentaire**. Cette approche est le fondement des règlements du « paquet hygiène ». Des mesures simples de paramètres physico-chimiques tels que temps, températures, pH, sont souvent préférables aux analyses microbiologiques, dans la mesure où de tels paramètres sont disponibles et où ils sont suffisants pour assurer la maîtrise des dangers microbiologiques.

La gestion de la sécurité sanitaire des aliments a évolué d'une approche essentiellement orientée sur le contrôle des produits finis à une approche basée sur la maîtrise des procédés, fondée sur les dangers. Dans un système HACCP, les décisions, les standards et les actions sont établis sur la base d'informations objectives et vérifiables sur les dangers pertinents, de manière à éliminer ou à réduire l'exposition à ces dangers, avec en corollaire un impact sur la santé publique lié à une diminution du risque par rapport au danger considéré. Il commence aujourd'hui à apparaître un besoin croissant de systèmes de gestion de sécurité sanitaire des aliments fondés sur les risques, qui sont destinés à atteindre et à maintenir un niveau défini de protection de la santé publique.

---

<sup>5</sup> Approche proposée par l'ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), reprise par le comité sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage du Codex Alimentarius dans le document CAC/GL 50-2004 « directives générales sur l'échantillonnage ».

### 3.3. Suivi de l'évolution des résultats

Le règlement (CE) n°2073/2005 prend en compte, dans son article 9, l'analyse de l'évolution :

« Les exploitants du secteur alimentaire analysent l'évolution des résultats des essais. Lorsqu'une évolution approchant des résultats insatisfaisants est observée, ils prennent sans retard injustifié des mesures appropriées pour corriger la situation en vue de prévenir l'apparition de risques microbiologiques ».

Les **critères d'hygiène des procédés** ont pour vocation de suivre l'évolution de la qualité microbiologique des fabrications dans le temps. Il s'agit de réaliser des analyses à une fréquence définie conformément au plan d'auto-contrôles, et de répertorier les résultats obtenus de manière exploitable et exploitée. L'interprétation des résultats doit tenir compte de cet objectif. En particulier, **un résultat supérieur à la limite fixée pour le critère d'hygiène des procédés ne doit pas conduire à une conclusion de type « produit conforme » ou « produit non conforme »**, mais doit faire l'objet d'un **enregistrement spécifique associé à une analyse des causes et à la mise en place d'actions correctives**, voire préventives, avec une réactivité suffisante.

Pour ces critères d'hygiène des procédés, qu'ils soient ou non définis réglementairement, cela signifie :

1. qu'il convient de définir un plan de prélèvement destiné à effectuer le **suivi de l'évolution** des résultats, sous forme de cartes de contrôle ou de tout autre système équivalent permettant de **visualiser les dérives éventuelles**,
2. qu'il est nécessaire de définir au préalable des **procédures de gestion des actions correctives** intégrées au plan de maîtrise sanitaire,
3. qu'il ne faut pas attendre de dépasser la limite d'un critère pour mettre en place des mesures correctives, le suivi de l'évolution des résultats sur une période donnée permettant d'**agir de façon préventive dès la mise en évidence d'écarts** par rapport à la normale.

### 3.4. Conséquences du choix de l'échantillonnage

L'utilisation des plans d'échantillonnage prévus dans le règlement (CE) n°2073/2005, ou de plans à trois classes avec  $n=5$  pour les critères indicateurs d'hygiène non réglementaires, peut s'avérer nécessaire dans des contextes tels que des expertises, des validations de procédés ou, de façon plus générale, lors des études menées dans le cadre de tests de vieillissement et de validation de la durée de vie. En revanche, pour ce qui concerne la surveillance des fabrications, la réalisation de prélèvements d'échantillons aléatoires simples (soit  $n=1$ ) s'avère souvent plus pertinente, à condition de l'intégrer dans un cumul de résultats permettant un suivi de l'évolution dans le temps, pour une même chaîne de production/distribution.

A titre d'exemple, un contrôle avec  $n=1$  par lot de production est un outil de suivi qui donnera une vision de l'ensemble de la production, mais il ne permettra pas de conclure quant à la conformité de ce lot. L'exploitation des résultats doit alors être réalisée sur la base de l'historique des données obtenues sur plusieurs semaines ou mois.

Afin d'améliorer la représentativité de la prise d'essai pour analyse et dans le cas de recherches qualitatives de type présence/absence dans une masse donnée d'échantillon, il peut être décidé de prélever plusieurs unités d'un même lot de fabrication (entre 2 et 5 en fonction de la taille d'une unité et de la catégorie de produits concernée), qui seront analysées en mélange, la masse totale de la prise d'essai restant la même que pour un prélèvement d'une seule unité. L'interprétation des résultats correspond alors au cas d'un plan d'échantillonnage de type  $n=1$ . A titre d'exemple, une prise d'essai de 25 g peut être obtenue à partir de 5 g prélevés sur 5 unités différentes pour effectuer les recherches de *Salmonella* ou *Listeria*. Cette adaptation n'est pas applicable aux analyses quantitatives de numération.

L'utilisation de plans renforcés doit être envisagée suite à la détection d'une non conformité sur un produit ou un lot de produits, ou lors de la mise en évidence d'un dysfonctionnement du procédé de fabrication. La taille de l'échantillonnage doit être déterminée au cas par cas, en fonction de la probabilité de détection du plan choisi d'une part, et du niveau de prévalence estimé du danger considéré.

## 4. Réalisation des analyses microbiologiques

### 4.1. Méthodes d'analyse

Les méthodes d'analyse de référence devant être utilisées sont précisées en annexe I du règlement (CE) n°2073/2005, pour chaque analyte objet d'un critère microbiologique. Il est néanmoins prévu une certaine flexibilité, précisée dans l'article 5, point 5 (cf. annexe II).

Pour les **méthodes alternatives commerciales**, la certification délivrée par AFAQ AFNOR CERTIFICATION sous la marque « AFNOR Validation » satisfait aux exigences de l'article 5 du règlement n°2073/2005. La liste des méthodes validées est disponible sur le site [www.afnor.org](http://www.afnor.org), onglet « Marques & Labels », « AFNOR VALIDATION », « Domaine agroalimentaire ».

Le recours à des **méthodes internes** peut également être autorisé dans la mesure où le laboratoire dispose des éléments justifiant leur validation par rapport aux méthodes de référence correspondantes (cf. procédure n°1133 du COFRAC « Validation interne des méthodes d'essais »).

Des précisions sur les méthodes sont données en annexe V.

### 4.2. Incertitudes de mesure et tolérance analytique

Au niveau communautaire, aucune mesure n'a été instaurée sur la manière dont l'incertitude de mesure doit être prise en compte dans l'interprétation des résultats des analyses microbiologiques. La notion de tolérance liée aux techniques d'analyses n'est pas prise en compte dans le règlement (CE) n°2073/2005. La norme ISO/TS 19036:2006<sup>6</sup> définit les lignes directrices pour l'estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives en microbiologie alimentaire, qui recouvre à la fois les erreurs liées à la technique de mesure, propre à chaque laboratoire, et la variabilité due à l'échantillon lui-même et à la concentration du micro-organisme dans l'aliment.

Les règles d'interprétation seront précisées ultérieurement afin de prendre en compte la tolérance analytique, de façon simple à utiliser et applicable à tous les laboratoires. On peut d'ores et déjà indiquer que, pour les résultats des indicateurs utilisés pour déterminer le caractère acceptable du fonctionnement d'un processus de production, associés à des critères d'hygiène des procédés, il n'est pas nécessaire que ces règles d'interprétation soient aussi strictes que dans le cadre de critères de sécurité des denrées alimentaires.

### 4.3. Laboratoires

Une distinction doit être faite en fonction du contexte à l'origine de la demande d'analyse.

#### - Analyses officielles

Selon le décret n°2006-7, toute analyse effectuée sur un échantillon prélevé dans le cadre d'un contrôle officiel doit être réalisée dans un **laboratoire agréé** par le ministre chargé de l'agriculture, avec une méthode officielle, qui est en général une méthode de référence normalisée ou une méthode commerciale certifiée par AFAQ AFNOR Certification.

---

<sup>6</sup> ISO/TS 19036 : « Microbiologie des aliments – Lignes directrices pour l'estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives ».

L'accréditation COFRAC (Comité français d'accréditation ) est une des exigences nécessaires à l'obtention de l'agrément.

Les conditions générales d'agrément seront précisées dans un arrêté d'application des articles R. 202-8 à R. 202-21 du code rural, à paraître en janvier 2008.

- *Auto-contrôles*

Selon le décret n°2006-7, les analyses réalisées sur des échantillons prélevés dans le cadre des auto-contrôles doivent être effectuées dans un **laboratoire reconnu**, avec une méthode reconnue. Un laboratoire reconnu doit satisfaire aux critères généraux de fonctionnement des laboratoires d'essais énoncés dans les normes internationales en vigueur. Il peut être ou non accrédité par le COFRAC.

Les conditions générales de reconnaissance seront précisées dans un arrêté d'application des articles R. 202-22 à R. 202-32 du code rural.

L'accréditation COFRAC permet de s'assurer de la compétence d'un laboratoire pour la réalisation des essais considérés. Un laboratoire est accrédité pour un programme (n°59 « analyses microbiologiques des produits agro-alimentaires ») et pour des essais donnés à l'intérieur de ce programme. La portée d'accréditation, qui liste l'ensemble des essais et méthodes concernés, peut être consultée pour chaque laboratoire sur le site du COFRAC, [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr), onglet « recherche d'organismes ».

Dans le cas des contrôles officiels ou si cela est jugé nécessaire, il convient de vérifier que les essais considérés font bien partie de la portée d'accréditation du laboratoire, sauf dans le cas d'analyses pour lesquelles il n'existe pas de méthode de référence, et qui ne sont donc pas associées à un programme d'accréditation.

Le document établi par la Direction générale santé et protection des consommateurs de la Commission européenne, intitulé « Guidance document on official controls, under Regulation (EC) n°882/2004, concerning microbiological sampling and testing of foodstuffs », peut être consulté pour obtenir des précisions complémentaires sur les analyses microbiologiques effectuées dans le cadre des contrôles officiels, à l'adresse suivante : [http://ec.europa.eu/food/food/controls/foodfeed/sampling\\_testing.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/controls/foodfeed/sampling_testing.pdf).

Je vous invite à me faire part de toute difficulté d'interprétation que vous pourriez rencontrer concernant cette note de service.

La Directrice Générale Adjointe  
C.V.O.  
Monique ELOIT

## ANNEXE I

### Extraits des règlements à prendre en compte pour la mise en œuvre des analyses microbiologiques de denrées alimentaires

#### 1. Règlement (CE) n°178/2002

Les principes généraux de la législation alimentaire sont décrits dans le règlement (CE) n°178/2002. Dans son article 14 sont définies les prescriptions relatives à la sécurité des denrées alimentaires. Il précise qu'**aucune denrée alimentaire n'est mise sur le marché si elle est dangereuse**, c'est-à-dire si elle est considérée comme :

- préjudiciable à la santé,
- impropre à la consommation humaine.

Pour déterminer si une denrée alimentaire est **dangereuse**, il est tenu compte :

- des **conditions d'utilisation normales** de la denrée alimentaire par le consommateur, à chaque étape de la production, du traitement et de la distribution,
- de **l'information fournie au consommateur**, y compris les informations figurant sur l'étiquette, ou d'autres informations généralement à la disposition du consommateur, concernant la prévention d'effets préjudiciables à la santé.

Pour déterminer si une denrée alimentaire est **préjudiciable à la santé**, il est tenu compte :

- de l'effet probable immédiat et/ou à court terme et/ou à long terme de cette denrée alimentaire sur la santé, non seulement d'une personne qui la consomme, mais aussi sur sa descendance,
- des effets toxiques cumulatifs probables,
- des sensibilités sanitaires particulières d'une catégorie spécifique de consommateurs lorsque la denrée alimentaire lui est destinée.

Pour déterminer si une denrée alimentaire est **impropre à la consommation humaine**, il est tenu compte de la question de savoir si cette denrée alimentaire est inacceptable pour la consommation humaine compte tenu de l'utilisation prévue, pour des raisons de contamination, d'origine externe ou autre, ou par putréfaction, détérioration ou décomposition.

Les responsabilités sont précisées dans les articles 17 et 19 de ce même règlement. Les exploitants du secteur alimentaire veillent à ce que les denrées répondent aux prescriptions de la législation alimentaire applicables à leurs activités et vérifient le respect de ces prescriptions, et ce, à toutes les étapes de la production, de la transformation et de la distribution dans les entreprises placées sous leur contrôle. Si un exploitant du secteur alimentaire considère, ou a des raisons de penser, que les prescriptions relatives à la sécurité des denrées alimentaires ne sont pas respectées, il doit engager immédiatement des procédures de retrait du marché, et en informe les autorités compétentes. Lorsque le produit peut avoir atteint le consommateur, l'exploitant informe les consommateurs de façon effective et précise les raisons du retrait, et, au besoin, rappelle les produits déjà fournis aux consommateurs.

#### 1.2. Règlement (CE) n°852/2004

Le règlement (CE) n°852/2004 établit les règles générales en matière d'hygiène des denrées alimentaires. L'un des principes essentiels est l'application généralisée de procédures fondées sur l'HACCP, associés à la mise en œuvre des bonnes pratiques d'hygiène, de manière à renforcer la responsabilité des exploitants du secteur alimentaire.

L'article 4 répertorie les exigences générales et spécifiques à respecter, et fixe les mesures devant être prises par les exploitants du secteur alimentaire, notamment :

- le respect des critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires,
- le prélèvement d'échantillons et la réalisation d'analyses.

L'article 5 rappelle les sept principes de l'HACCP, notamment le recensement des dangers à prendre en compte et l'établissement, aux points critiques de contrôle (CCP), de limites qui différencient l'acceptabilité de la non acceptabilité pour la prévention, l'élimination ou la réduction des dangers identifiés.

## La flexibilité et le règlement (CE) n°2073/2005

### Article 4 – Essais fondés sur les critères<sup>1</sup>

*Point 2.* Les exploitants du secteur alimentaire décident des fréquences d'échantillonnage appropriées à appliquer, sauf lorsque l'annexe I du règlement (CE) n°2073/2005 prévoit des fréquences particulières. Dans ce cas, la fréquence d'échantillonnage sera au moins celle prévue à l'annexe I. Les exploitants du secteur alimentaire prennent cette décision dans le cadre de leurs procédures fondées sur les principes HACCP et les bonnes pratiques d'hygiène, en tenant compte des instructions concernant l'utilisation des denrées alimentaires.

**La fréquence d'échantillonnage peut être adaptée à la nature et à la taille des entreprises du secteur alimentaire, pour autant que la sécurité des denrées alimentaires ne soit pas menacée<sup>2</sup>.**

### Article 5 – Dispositions particulières concernant les essais et l'échantillonnage<sup>3</sup>

*Point 3.* Le **nombre d'unités à prélever suivant les plans d'échantillonnage définis à l'annexe I du règlement peut être réduit** si l'exploitant du secteur alimentaire **est en mesure de démontrer**, par une documentation historique, qu'il dispose de **procédures efficaces** fondées sur les principes HACCP.

*Point 5.* Les exploitants du secteur alimentaire peuvent **utiliser d'autres procédures d'échantillonnage et d'essai** lorsqu'ils **sont en mesure de démontrer**, à la satisfaction de l'autorité compétente, que ces procédures fournissent des **garanties au moins équivalentes**. Ces procédures peuvent prévoir le recours à d'autres sites d'échantillonnage et à des analyses de tendances.

Des essais fondés sur d'autres micro-organismes et limites microbiologiques connexes ainsi que des essais fondés sur des analytes non microbiologiques ne sont autorisés que pour des critères d'hygiène des procédés.

Le recours à d'autres méthodes d'analyse est autorisé lorsque les méthodes sont validées par rapport à la méthode de référence définie à l'annexe I du règlement critères microbiologiques, et, s'il s'agit de méthodes commercialisées, certifiées par une tierce partie, conformément au protocole défini dans la norme EN/ISO 16140<sup>4</sup> ou à d'autres protocoles analogues reconnus au niveau international.

Si l'exploitant du secteur alimentaire souhaite utiliser d'autres méthodes d'analyse que les méthodes validées et certifiées décrites ci-dessus, ces méthodes doivent être validées conformément aux protocoles reconnus au niveau international, et leur utilisation doit être autorisée par l'autorité compétente.

---

<sup>1</sup> Considérant (23) « Les exploitants du secteur alimentaire doivent décider eux-mêmes des fréquences des échantillonnages et des essais requis dans le cadre de leurs procédures HACCP et autres procédures de contrôle de l'hygiène ».

<sup>2</sup> L'article 4 ne porte que sur la fréquence d'échantillonnage et non sur l'effectif de chaque échantillon. Pour vérifier l'efficacité d'un plan d'auto-contrôles (et pour contrôler sa maîtrise par l'entreprise), il faut également se référer à l'article 5, et utiliser les graphiques de l'annexe III.

<sup>3</sup> Considérant (24) « Les résultats des essais dépendent de la méthode d'analyse utilisée de sorte qu'une méthode de référence donnée devrait être associée à chaque critère microbiologique. Il faudrait toutefois que les exploitants du secteur alimentaire puissent utiliser d'autres méthodes d'analyse que les méthodes de référence, en particulier des méthodes plus rapides, pour autant que ces méthodes fournissent des résultats équivalents. Par ailleurs, un plan d'échantillonnage doit être défini pour chaque critère afin de garantir une application harmonisée. Il est néanmoins nécessaire d'autoriser l'utilisation d'autres protocoles d'échantillonnage et d'essai, y compris le recours à d'autres organismes indicateurs, à condition qu'ils fournissent des garanties équivalentes quant à la sécurité des denrées alimentaires ».

<sup>4</sup> Norme NF EN ISO 16140 « Microbiologie des aliments – Protocole pour la validation des méthodes alternatives ».

**Limites des plans d'échantillonnage en microbiologie des aliments  
Exemples en fonction du nombre d'unités testées (plans à 2 classes)**

Les exemples suivants de plans d'échantillonnage à deux classes reposent sur l'hypothèse favorable d'une distribution homogène du micro-organisme considéré dans le lot. Cette hypothèse n'est généralement pas valable pour les aliments solides ; dans ce cas les probabilités ci-dessous d'accepter un lot contenant des unités non conformes sont plus élevées.

1. Echantillon de 5 unités testées

Pour un plan de type **n=5**, c=0, il existe une probabilité de :

- **95%** d'accepter un lot contenant **1%** d'unités non conformes
- **90%** d'accepter un lot contenant **2%** d'unités non conformes
- **77%** d'accepter un lot contenant **5%** d'unités non conformes
- **59%** d'accepter un lot contenant **10%** d'unités non conformes
- **32%** d'accepter un lot contenant **20%** d'unités non conformes
- **17%** d'accepter un lot contenant **30%** d'unités non conformes
- **3%** d'accepter un lot contenant **50%** d'unités non conformes

2. Echantillon de 10 unités testées

Pour un plan de type **n=10**, c=0, il existe une probabilité de :

- **90%** d'accepter un lot contenant **1%** d'unités non conformes
- **60%** d'accepter un lot contenant **5%** d'unités non conformes
- **35%** d'accepter un lot contenant **10%** d'unités non conformes
- **11%** d'accepter un lot contenant **20%** d'unités non conformes
- **<1%** d'accepter un lot contenant **50%** d'unités non conformes

3. Echantillon de 20 unités testées

Pour un plan de type **n=20**, c=0, il existe une probabilité de :

- **83%** d'accepter un lot contenant **1%** d'unités non conformes
- **38%** d'accepter un lot contenant **5%** d'unités non conformes
- **12%** d'accepter un lot contenant **10%** d'unités non conformes
- **1%** d'accepter un lot contenant **20%** d'unités non conformes

4. Echantillon de 30 unités testées

Pour un plan de type **n=30**, c=0, il existe une probabilité de :

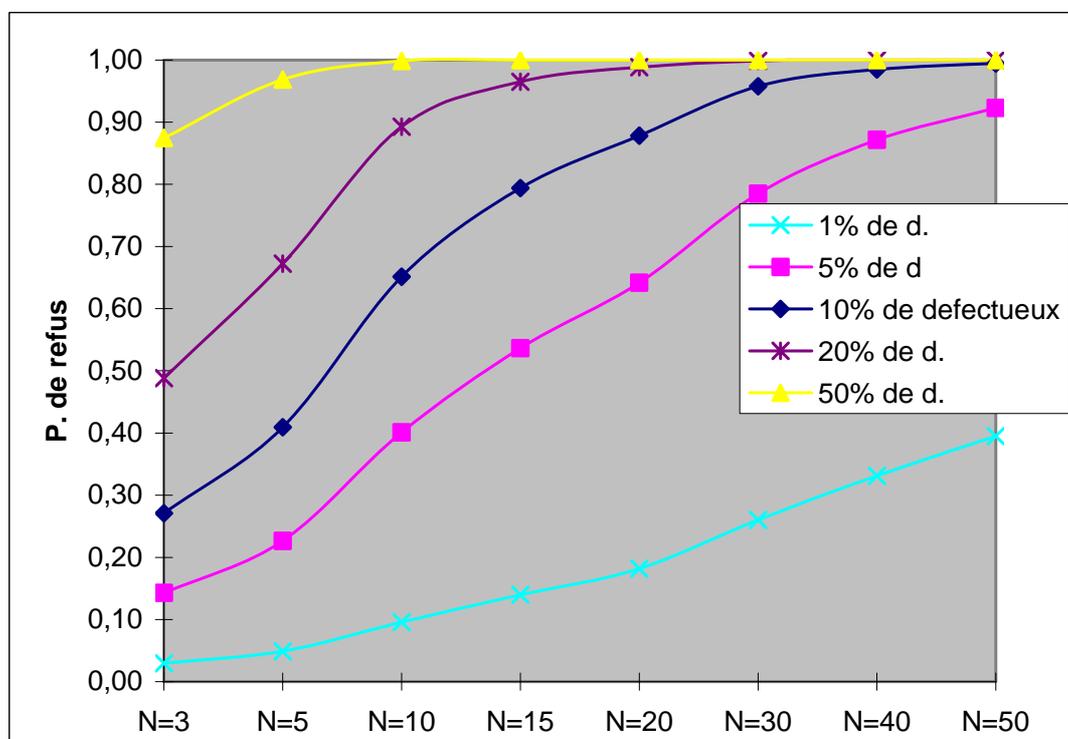
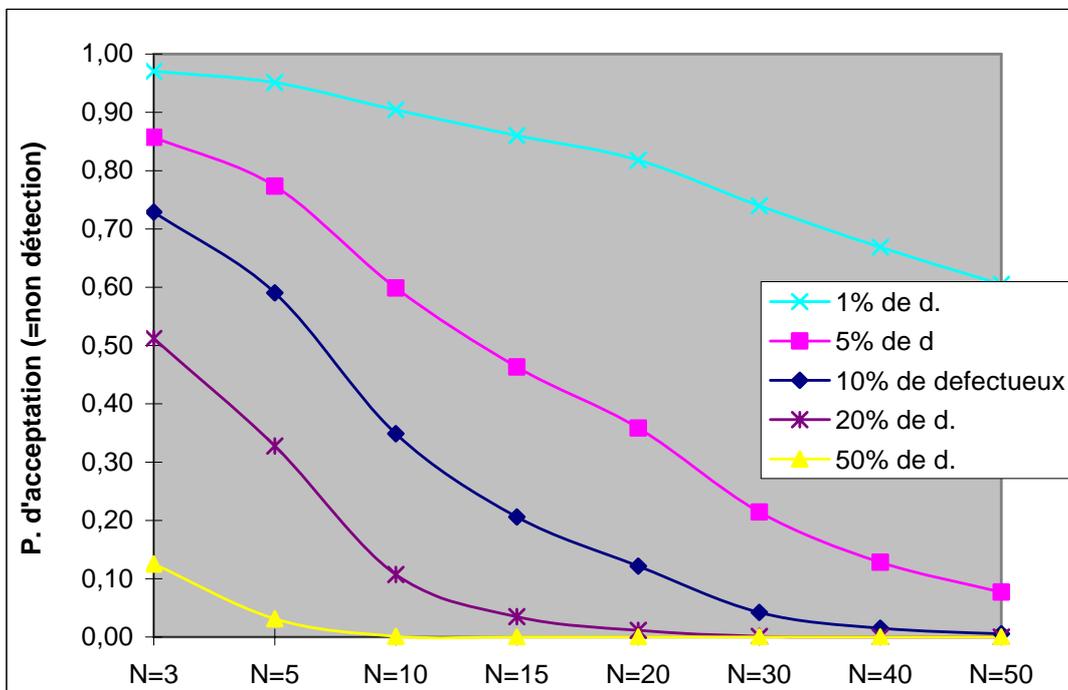
- **74%** d'accepter un lot contenant **1%** d'unités non conformes
- **22%** d'accepter un lot contenant **5%** d'unités non conformes
- **5%** d'accepter un lot contenant **10%** d'unités non conformes

### ANNEXE III (suite)

**Incidence de l'effectif d'échantillon sur l'efficacité des plans pour différentes qualités de lots**  
 (les plans sont de type  $c=0$  ; les courbes sont établies à partir de calculs selon la loi binomiale).

**En abscisse : effectif de l'échantillon (N).**

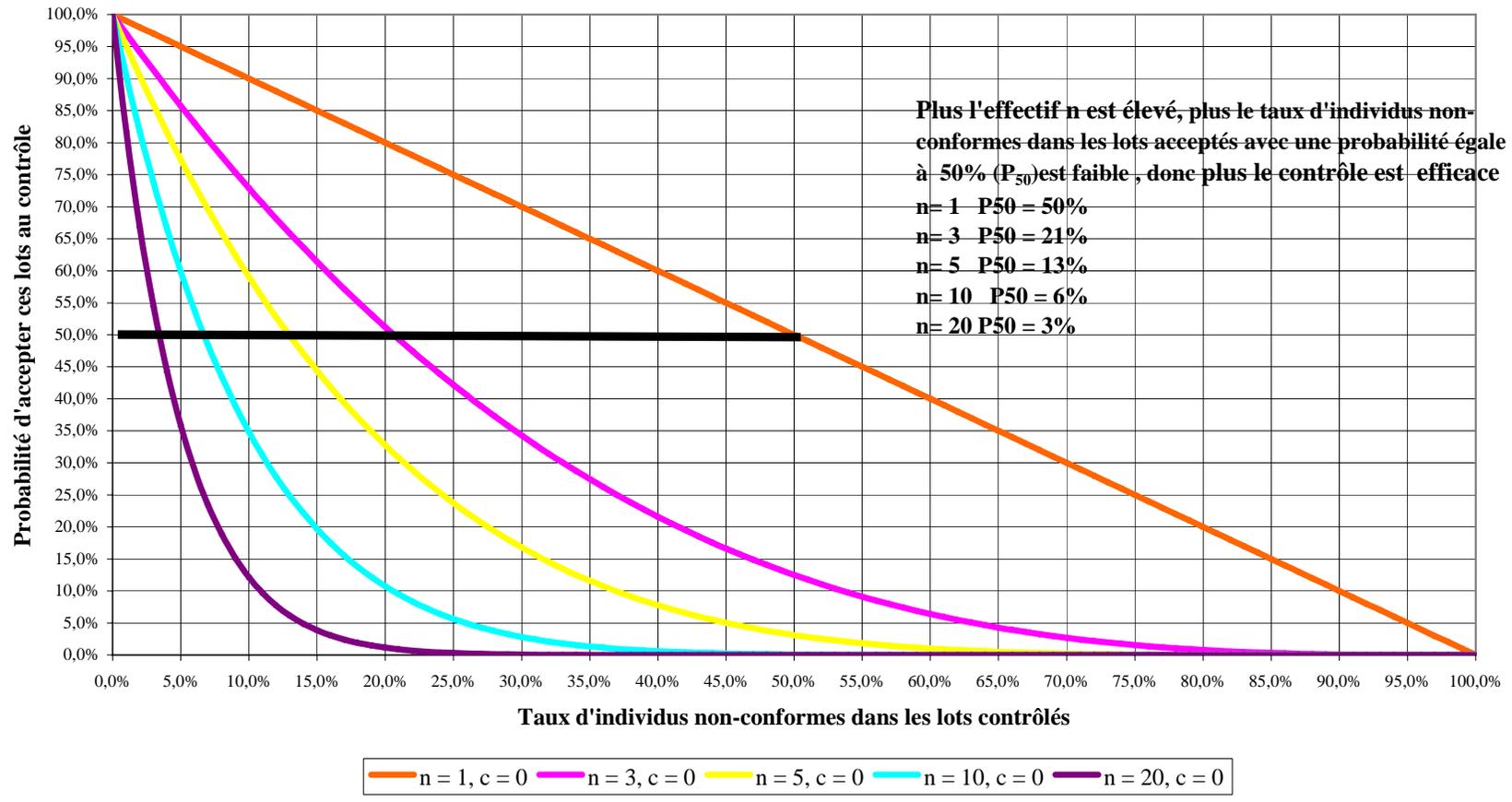
**En ordonnée : probabilité d'acceptation ou de refus des différents types de lots.**



## ANNEXE IV

### Courbes d'efficacité de plans d'échantillonnage (plans à deux classes)

**n** est l'effectif de l'échantillon en prélèvements élémentaires;  
**c** est le nombre maximum de prélèvements élémentaires non-conformes dénombrés dans l'échantillon pour accepter le lot



## Méthodes d'analyses

Les **méthodes normalisées de routine**, qui ont été largement utilisées en France pour les dénombrements, ne sont pas validées par rapport aux méthodes de référence correspondantes, selon le protocole de la norme NF EN ISO 16140. Pour la majorité d'entre elles, la principale différence était l'utilisation d'une boîte par dilution pour la méthode de routine au lieu de deux boîtes par dilution pour la méthode de référence. Cependant, la nouvelle version de la norme NF EN ISO 7218 « Microbiologie des aliments – Exigences générales et recommandations », publiée en octobre 2007, autorise la mise en œuvre des dénombrements en « simple boîte ». De ce fait, les laboratoires accrédités pour les méthodes de routine peuvent ainsi se faire accréditer pour les méthodes de référence, selon les modalités définies par le COFRAC. Par ailleurs, les méthodes de routine seront, pour la plupart, progressivement supprimées par l'AFNOR au cours de l'année 2008.

Le **dénombrement des entérobactéries** par comptage des colonies représente un cas particulier dans la mesure où la méthode de référence NF ISO 21528/Partie 2 n'est pas équivalente à la méthode de routine NF V08-054. Cette dernière doit faire l'objet d'une révision par l'AFNOR, de manière à cibler une population différente de la méthode de référence NF ISO 21528-2, à savoir « *Enterobacteriaceae* présomptives cultivant à 30°C », et à établir une distinction explicite entre les deux méthodes.

Concernant le **dénombrement des staphylocoques à coagulase positive**, la méthode de routine NF V08-057-1 prévoit la possibilité d'une confirmation par test en piqûre sur RPF, très utile, rapide et économique, à la différence de la méthode de référence NF EN ISO 6888-1. Des essais réalisés sous l'égide de la Commission AFNOR V08B « Microbiologie des aliments » ont montré l'équivalence des deux modalités de confirmation (par piqûre sur RPF et bouillon cœur-cerveau/plasma de lapin). L'utilisation de la méthode NF V08-057-1 reste donc autorisée, au-delà de la mise en œuvre de la nouvelle version de la norme NF EN ISO 7218.

La méthode de routine XP V08-062 « **Microbiologie des aliments - Méthode de dénombrement de *Listeria monocytogenes*** » ne respecte plus le principe de la méthode de référence NF EN ISO 11290-2 amendée (utilisation du milieu ALOA), et elle est plus lourde à mettre en œuvre (2 géloses de dénombrement) que la méthode de référence. Dans l'attente de son annulation, cette méthode ne doit plus être utilisée.

Compte tenu de l'importance pour les opérateurs des données historiques disponibles dans le cadre de leurs auto-contrôles, l'utilisation d'autres méthodes, ayant fait l'objet d'une reconnaissance au niveau national, peut être autorisée, en particulier pour la vérification des critères indicateurs d'hygiène, dans la mesure où il s'agit avant tout de suivre l'évolution des résultats dans le temps. Les seuils fixés (limites critiques de CCP ou critères internes) par chaque exploitant du secteur alimentaire doivent néanmoins tenir compte des caractéristiques de la méthode choisie, les critères définis dans le règlement (CE) n°2073/2005 étant pertinents pour la méthode de référence considérée (ici la méthode NF ISO 21528-2). Il convient de se référer aux guides de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP élaborés par les différentes fédérations professionnelles.