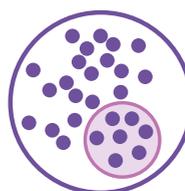




DÉFINITION D'UN PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE

Annexe 5



INTRODUCTION	2
DÉFINITION D'UN PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE	3
Choix des microorganismes, paramètres physico-chimiques et seuils critiques	3
Définition de la stratégie d'échantillonnage	4
Evaluation de la performance du plan d'échantillonnage	5
Collecte et stockage des données	6
CONCLUSIONS	7
RESSOURCES	7
REFERENCES	7

INTRODUCTION

En Europe, les fromages au lait cru sont soumis aux critères de sécurité réglementaires applicables aux denrées alimentaires (règlement CE 2073/2005). En particulier, fromages, beurres et crèmes fabriqués à partir de lait cru ou de lait traité à une température inférieure à celle de la pasteurisation, doivent vérifier le critère décrit ci-dessous, excepté les produits pour lesquels le fabricant peut démontrer, à la satisfaction des autorités compétentes, qu'en raison du temps d'affinage et de la valeur de l'activité de l'eau du produit le cas échéant, il n'y a aucun risque de contamination par les salmonelles.

- $n=5$ (n : nombre d'unités d'échantillonnage constituant l'échantillon) ;
- $c=0$ (c : nombre d'unités d'échantillonnage donnant des valeurs comprises entre m et M) ;
- limite : absence dans 25g ;
- méthode de référence : EN/ISO 6579 ;
- stade d'application : produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
- Le règlement ne précise pas la fréquence de réalisation du plan d'échantillonnage indiqué

Le dispositif de surveillance de la qualité sanitaire des fromages en cours de transformation s'inscrit dans un processus global de maîtrise de la qualité sanitaire de la fourche à la fourchette. Il s'intègre dans le cadre du plan de maîtrise sanitaire des professionnels et des filières, incluant la mise en place d'autocontrôles microbiologiques. La réalisation de ces autocontrôles microbiologiques nécessite la définition de plans d'échantillonnage. L'objectif de cette annexe est de fournir des éléments méthodologiques pour la définition de ces plans lors de la fabrication de fromages au lait cru.

PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE



LA DÉFINITION D'UN PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE, UN PROCESSUS ITÉRATIF BASÉ, ENTRE AUTRES, SUR LA VALORISATION DES DONNÉES D'AUTOCONTRÔLES

Les plans d'échantillonnage pour le contrôle des matières premières, des produits en cours de fabrication, et des produits finis sont définis selon le schéma itératif suivant :

- **Étape A** : dans le cadre du plan HACCP, l'opérateur identifie les microorganismes, paramètres physico-chimiques et seuils critiques à contrôler.
- **Étape B** : l'opérateur met en place des autocontrôles pour s'assurer que les exigences fixées sont respectées. Il définit une stratégie d'échantillonnage.
- **Étape C** : l'opérateur évalue la performance du plan d'échantillonnage pour des niveaux de confiance et de performance donnés, en valorisant statistiquement les données disponibles.
- **Étape D** : En fonction des résultats de l'étape C, les éléments des étapes A et B sont révisés.

ÉTAPE A : CHOIX DES MICROORGANISMES, PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES ET SEUILS CRITIQUES

La mise en place d'une démarche d'analyse des dangers fondée sur les principes HACCP permet de choisir les microorganismes, paramètres physico-chimiques et limites maximales et/ou minimales au-delà desquelles une mesure corrective doit être mise en place. Il peut s'agir d'analyses du lait de ferme, de collecte, de mélange, du produit en cours de fabrication, du produit fini, d'analyses dans l'environnement de l'élevage ou de la fromagerie. La définition du plan d'échantillonnage pour la surveillance s'inscrit dans un contexte global, incluant :

- L'analyse des dangers faite par l'entreprise.
- La pression analytique globale.
- Le contexte historique de la filière ou de l'entreprise.
- La stratégie d'entreprise ou de filière.
- La faisabilité terrain.
- L'équilibre des coûts analytiques sur l'ensemble de la chaîne de fabrication.

- L'exigence des marchés et destination des fromages fabriqués.

Les germes peuvent être des pathogènes ou encore des indicateurs d'hygiène. Des limites de fréquence de contamination (occurrence) et/ou de concentration sont fixées, à des stades déterminés de la chaîne de fabrication. Les paramètres de procédé sont souvent des paramètres physico-chimiques pour lesquels il s'agit de respecter une valeur moyenne ou une valeur « seuil ».

La valorisation des résultats d'échantillonnage par des analyses statistiques et/ou de la modélisation permet de s'assurer que les germes, les paramètres et les limites pour lesquels des autocontrôles sont réalisés sont pertinents :

- **Analyses statistiques** : confrontation des données entre elles par des analyses statistiques de corrélation : entre germes, entre stades de fabrication, entre un germe et un paramètre physico-chimique, entre des dénombrements et des prévalences.
- **Microbiologie prévisionnelle** : simulation au cours du temps du comportement des bactéries dans l'aliment, en fonction des paramètres physico-chimiques tels que le pH, la température, l'activité de l'eau, les acides organiques, tout au long de la chaîne de production, et pour un niveau de contamination initial donné. Concernant en particulier les produits en cours de transformation (fabrication ou affinage), une bonne connaissance de la technologie, du comportement des salmonelles au cours du temps, de l'évolution des paramètres physico-chimiques (pH, température, activité de l'eau, acides lactiques ...), et du profil d'affinage (court, long), permettra de mieux appréhender le plan d'échantillonnage à mettre en place, y compris sur la matrice à prélever (cœur, croûte, mélange des 2) et le stade de prélèvement (pic de concentration). L'utilisation de cette approche peut nécessiter la réalisation d'un test de croissance.
- **Appréciation Quantitative des Risques (AQR)** : approche quantitative basée sur des simulations qui vise à estimer, par modélisation et par simulation numérique, le risque d'effet néfaste (maladie, décès) pour la santé humaine. Elle prend en compte

l'ensemble de la vie du produit, « de la fourche à la fourchette » et permet d'associer dans un même modèle de simulation, des données sur la qualité sanitaire du lait de collecte et des données sur les produits en cours de transformation. En couplant le niveau de contamination du produit fini (obtenu par microbiologie prévisionnelle ou résultats d'analyse) à des données de consommation et une relation dose-réponse, l'AQR permet d'identifier des objectifs de performance et des critères microbiologiques aux différents stades de la chaîne de fabrication en fonction du risque pour la santé humaine.

Si la valorisation statistique des données montre que les germes, paramètres physicochimiques et seuils choisis ne sont pas pertinents ou ne permettent pas de garantir un niveau de maîtrise sanitaire suffisant pour les produits fabriqués, ils devront être revus.

ÉTAPE B : DÉFINITION DE LA STRATÉGIE D'ÉCHANTILLONNAGE

Lorsque les germes, les paramètres de process, les stades de la chaîne de fabrication et les seuils à surveiller sont déterminés, le fabricant définit alors un plan d'échantillonnage qui aura pour objectif de s'assurer que les exigences fixées sont respectées.

Objectif du plan d'échantillonnage

La mise en place d'un plan d'autocontrôle peut répondre à plusieurs objectifs :

- **Validation** : évaluation ponctuelle de l'acceptabilité d'un lot.
- **Surveillance** : la surveillance est définie dans le Codex alimentarius comme la « réalisation d'une série programmée d'observations ou de mesures afin de déterminer si une mesure de maîtrise donne les résultats escomptés ». L'activité de surveillance s'applique a minima aux limites critiques des CCP définies dans le cadre du plan HACCP, et peut concerner des indicateurs d'hygiène (par exemple, *enterobacteriaceae*, *coliformes totaux*, *enterococci*, *E. coli*) ou des mesures physico-chimiques.
- **Vérification** : l'exploitation de l'ensemble des résultats d'analyse compilés peut constituer une preuve de la maîtrise de la qualité sanitaire, pour des niveaux de confiance et de performance donnés. Il peut s'agir de données de surveillance, de test de vieillissement, d'analyses microbiologiques réalisées dans le cadre du règlement CE 2073/2005.

L'objectif du plan d'échantillonnage doit avoir été préalablement identifié, pour évaluer sa performance.

Définition de la stratégie d'échantillonnage

Les plans mis en place en IAA sont le plus souvent des plans, dits par attributs, à 2 classes (n, c, m) ou à 3 classes (n, c, m, M) (figure 1). Le plan d'échantillonnage doit préciser la population concernée, la taille de l'échantillon - c'est-à-dire le nombre d'unités d'échantillonnage prélevées dans la population -, les quantités prélevées et analysées, la méthode analytique. La fréquence d'analyse (ex : tous les lots, 1 lot sur 2) est également à déterminer.

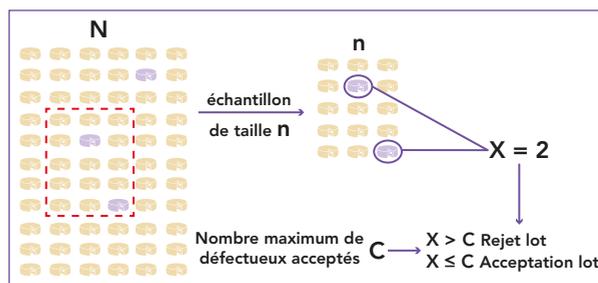


Figure 1 : Plan d'échantillonnage par attributs.
n éléments sont prélevés parmi N,
X est le nombre d'unités non-conformes dans l'échantillon

Généralement, la population concernée est le « lot », qui est défini comme un ensemble de produits, pré-emballés ou non, fabriqués dans des conditions similaires (par exemple, avec la même matière première, entre deux opérations d'hygiène, sur une durée de production définie, issus d'une même ligne de fabrication, avec le même lait de tank de collecte). Le plan d'échantillonnage est mis en place relativement à un caractère du lot. Des unités d'un lot peuvent être homogènes pour un caractère mais hétérogènes pour d'autres caractères. Une contamination est dite « hétérogène » quand les concentrations sont différentes d'une zone à l'autre d'un lot. Toutes les informations et données permettant de décrire l'hétérogénéité de la contamination biologique d'un lot, et en particulier les résultats d'analyses microbiologiques réalisés en routine, doivent être exploitées pour évaluer la performance d'un plan d'échantillonnage. Si la contamination dans le lot est supposée hétérogène, il est recommandé de constituer un échantillon à partir de plusieurs unités d'échantillonnage réparties dans le lot.

Il est fréquent de constituer un échantillon en mélangeant plusieurs prélèvements issus de différentes unités du lot (« pooling » ou regroupement). Si l'objectif du plan est de détecter une contamination, le plan d'échantillonnage présentera les mêmes performances avec ou sans regroupement, sous réserve que la méthode analytique garantisse des caractéristiques équivalentes, quelles que soient les conditions. Si la garantie d'une performance équivalente n'est pas disponible, une validation analytique est alors nécessaire (voir l'annexe 6 sur les méthodes analytiques). Dans un contexte de dénombrement

d'un germe, il est nécessaire d'être vigilant lors de l'interprétation des résultats : la concentration obtenue sera représentative de la concentration moyenne du lot et ne permettra pas de présager de l'hétérogénéité de la contamination dans le lot.

Il existe différentes stratégies pour tirer au sort des unités d'échantillonnage dans une population d'intérêt :

- **Systématique** : prélever des unités d'échantillonnage à une fréquence pré-définie. Stratégie simple à mettre en œuvre mais il faut être vigilant en cas de lignes parallèles de production : si l'une d'entre eux présente une défaillance, les résultats peuvent être biaisés.
- **Aléatoire** : prélever aléatoirement des unités d'échantillonnage dans une population/lot.
- **Aléatoire stratifié** : la population est séparée en différentes strates, de tailles différentes ou non, quand il y a par exemple des zones connues comme plus à risque que d'autres. Les unités d'échantillonnage sont prélevées aléatoirement dans chaque strate.

Si aucune information n'est disponible pour définir le plan d'autocontrôles (si l'activité du site démarre, par exemple), il est recommandé de mettre en place un plan d'échantillonnage renforcé sur une période suffisante afin de collecter des données robustes, représentative d'un fonctionnement normal. Si des données sont déjà disponibles, la valorisation statistique des données permettra de caractériser la performance statistique du plan d'échantillonnage choisi (capacité à détecter des non-conformités, par exemple), pour des niveaux de confiance et de performance donnés.

ÉTAPE C : ÉVALUATION DE LA PERFORMANCE DU PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE

Préambule : sur le terrain, aucun plan d'échantillonnage ne peut garantir l'absence totale d'individus non conformes dans un lot

Le choix du plan d'échantillonnage doit mettre en balance les performances statistiques du plan, les conséquences en termes de risque pour le consommateur, les coûts analytiques et les coûts des mesures de gestion. En particulier, l'évaluation de la performance statistique du plan d'échantillonnage doit permettre de s'assurer que le plan permet de respecter les exigences fixées à l'étape A (par exemple : bonne mise en œuvre des BPH, respect d'un critère microbiologique - réglementaire, exigence client, interne et/ou détection de dérives) pour des niveaux de confiance et de performance donnés.

La méthode permettant d'évaluer la performance du plan d'échantillonnage mis en place dépend de l'objectif du plan préalablement identifié (validation, vérification, surveillance). Dans tous les cas, elle se base sur la valorisation des résultats d'autocontrôles par des analyses statistiques, comme suit :

• Objectif : validation

La performance d'un plan d'échantillonnage par attribut est caractérisée par sa courbe d'efficacité (figure 2), c'est-à-dire les probabilités de rejet et d'acceptation de lot pour un niveau de contamination (prévalence ou concentration) donné. Cette courbe dépend :

- du type de plan d'échantillonnage (2 ou 3 classes ; détection ou dénombrement).
- du plan d'échantillonnage et de la taille des unités d'échantillonnage.
- de l'hétérogénéité de la contamination au sein d'un lot et entre les lots (prévalence, concentration, distribution de la concentration).
- des caractéristiques de la méthode analytique employée (sensibilité, spécificité, limite de détection, limite de quantification).
- du niveau de confiance et du niveau de performance attendus.

Les calculs appliqués se basent sur la théorie des probabilités et des statistiques et ne seront pas détaillés dans ce document. Ils nécessitent de collecter les informations listées ci-dessus.

L'utilisation des plans par attributs est pertinente lorsque le germe/paramètre considéré est quantifiable (indicateur d'hygiène). Pour la détection de germes à prévalence faible (cas des pathogènes), les plans à 2 classes avec un faible nombre d'unités d'échantillonnage (par exemple $n=5$) présentent des performances limitées mais sont nécessaires dans un contexte de vérification (voir ci-après).

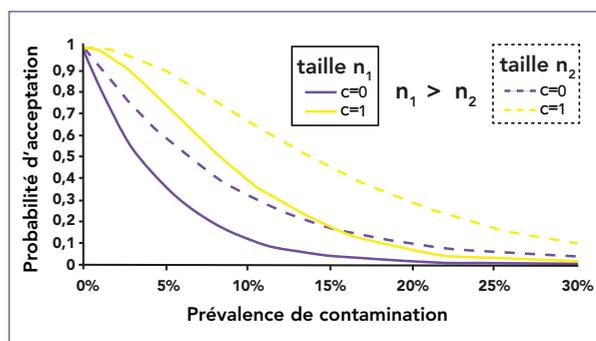


Figure 2 : Exemples de courbes d'efficacité pour différentes tailles d'échantillons (n_1 , n_2), et différents nombres maximums de non-conformités c

• Objectif : surveillance

Dans cette démarche, les cartes de contrôles, cumulatives ou non, sont des outils utilisables en temps réel qui ont pour objectif de déclencher la mise en place d'actions correctives, y compris le renforcement des analyses, avant que le process ne soit hors de contrôle (figure 3). Elles peuvent également annoncer le retour à une surveillance de routine. Dans ce contexte, l'analyse des données consiste à vérifier que la carte de contrôle en place permet de détecter un dérèglement aussi vite qu'attendu. Les cartes de contrôles sont adaptées lorsque les paramètres sont quantifiables, tels que les indicateurs d'hygiène.

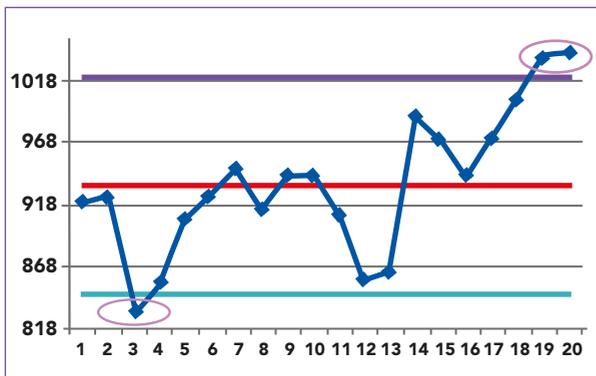


Figure 3 : . Exemple de carte de contrôle

• Objectif : vérification

C'est l'accumulation des résultats qui permet d'augmenter la confiance dans la représentativité des analyses et la robustesse des résultats. Par exemple, l'intervalle de confiance d'une prévalence de contamination dépend du nombre de résultats utilisé pour le calcul. Plus ce dernier est grand, plus l'étendue de l'intervalle de confiance diminue, et plus la puissance statistique du résultat est renforcée. A titre d'exemple, l'intervalle de confiance à 95% d'une prévalence est :

- [0% ; 52%] lorsque aucune unité d'échantillonnage sur 5 est non-conforme.
- [0% ; 7%] lorsque aucune unité d'échantillonnage sur 50 est non-conforme.
- [3,6% ; 62%] lorsque 1 unité d'échantillonnage sur 5 est non-conforme.
- [0,3% ; 10,5%] lorsque 1 unité d'échantillonnage sur 50 est non-conforme.

Dans ce contexte, la fréquence d'analyse est déterminante. Les analyses de tendance sur un historique d'autocontrôles permettent également d'évaluer a posteriori si une dérive significative de la situation sanitaire a eu lieu.

Plus globalement, l'intégration du plan de contrôle microbiologique (par exemple, le plan d'échantillonnage du lait de collecte individuellement, ou les plans d'échantillonnage pour le lait de grand mélange et les fromages à J1, combinés) dans un modèle AQR permettra par simulation d'évaluer son impact sur la réduction du risque pour la santé humaine et sur le pourcentage de lots rejetés.

ÉTAPE D : RÉVISION DES ÉTAPES A ET B

L'évaluation statistique de la performance du plan d'autocontrôles en utilisant les données disponibles peut conduire à sa révision, en particulier si elle montre que les plans d'échantillonnage ne permettent pas de garantir avec une confiance et une performance suffisantes les exigences fixées.

COLLECTE ET STOCKAGE DES DONNÉES

Une collecte et un stockage des données organisées sont nécessaires pour une valorisation optimale des données.

Une gestion méthodique des données collectées doit être mise en place. Il est recommandé d'utiliser des outils informatiques (tableurs, base de données, etc.). Pour un traitement statistique facilité, un codage des données pérenne doit être utilisé, en particulier ne mélangeant pas des caractères qualitatifs (ex : absence) et quantitatifs (ex : 10 cfu/ml). Les logiciels statistiques permettent d'automatiser certaines procédures, autorisant un gain de temps pour le responsable qualité. Les informations associées aux résultats analytiques, comme la méthode analytique utilisée, doivent également être stockées.

Il est également important de pouvoir identifier si une analyse est réalisée dans un cadre de routine, ou dans un cadre de surveillance renforcée, notamment pour les analyses de l'environnement.

CONCLUSION

Pour les salmonelles dans les fromages au lait cru, le critère microbiologique retenu dans la réglementation européenne est « absence dans 5 unités d'échantillonnage de 25 grammes ».

La mise en œuvre de ce plan s'inscrit dans un processus de vérification afin de s'assurer, via le cumul des données, que le plan de maîtrise sanitaire garantit un niveau d'exigence sanitaire attendu.

La réglementation européenne impose en complément la réalisation d'autocontrôles qui s'inscrivent dans le cadre du plan HACCP.

Les résultats d'autocontrôles sont généralement utilisés pour la gestion quotidienne des fabrications mais leur valorisation statistique doit également permettre l'optimisation des plans d'échantillonnage mis en place, selon un processus itératif. Pour cela, une collecte et une gestion organisées des données, couplées à une démarche d'analyse statistique régulière de données disponibles sont nécessaires.

RESSOURCES

Le CNIEL et le pôle Expertise analytique d'Actalia ont développé des outils basés sur la modélisation, les statistiques et l'AQR, pour accompagner les professionnels laitiers dans l'évaluation de l'efficacité de leurs plans d'échantillonnage.

Il existe également des outils en ligne mis à disposition par l'ICMSF et la FAO/WHO.

Pour aller plus loin sur la théorie des plans d'échantillonnage, il existe des documents de référence en anglais principalement.

RÉFÉRENCES

- Tenenhaus-Aziza et coll. 2017. Valider ses mesures de maîtrise en industrie agroalimentaire grâce à la modélisation et l'appréciation quantitative des risques. Industries Agroalimentaires et Agricoles. Mars/Avril 2017.
- WHO&FAO 2016. Statistical aspects of microbiological criteria related to foods: a risk managers guide. World Health Organization.
- ICMSF 2018. Microorganisms in Foods 7. Microbiological Testing in Food Safety Management. Second Edition

