

Bull. Acad. Vét. de France, 1990, 63, 141-146

COMMUNICATIONS

Mise en place d'un réseau d'intercomparaison en bactériologie des aliments

par Vincent CARLIER*, Marie-Hélène SÉKÉLY*
et Jacques ROZIER*

RÉSUMÉ

Dans la perspective du marché unique européen, la France doit se doter d'un système de maîtrise de la qualité des aliments. En particulier, les laboratoires d'analyses devront garantir leurs performances par l'obtention d'une accréditation.

Les procédures d'accréditation comprennent, outre les normes d'organisation et de gestion, un certain nombre de données fonctionnelles basées sur l'exploitation des résultats des chaînes d'analyses d'intercomparaison.

Une initiative a été prise dans ce sens par un groupe formé au sein de deux associations ; une chaîne d'analyses intercomparatives en bactériologie des aliments fonctionne depuis janvier 1988. Plus de 125 laboratoires publics et privés y participent.

A l'issue des 4 premiers envois, une synthèse des constatations est effectuée et les perspectives de développement sont évoquées.

Mots clés : Qualité des aliments - Intercomparaison - Laboratoires d'analyses.

SUMMARY

LAUNCHING OF AN INTERCOMPARATIVE NETWORK IN FOOD BACTERIOLOGY

In view of the EEC Unique Market, France has to settle a food quality control system. In particular, analysis laboratories will have to guarantee their performances by the obtainment of an accreditation.

* Service d'Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7, av. du Général-de-Gaulle - 94704 Maisons-Alfort cedex.

Accreditation procedures include, beyond organization and management standards, a certain number of functional datas, based on the exploitation of results from intercomparative analysis chains.

To this effect, an initiative has been taken by a group whose members belong to two associations ; an intercomparative analysis network in food bacteriology works since January 1988. More than 125 laboratories, public or private, take part of it.

At the end of the 4 first sample sendings, a synthesis is done, and development prospects are evocated.

Key words : Quality of foods - Intercomparison - Analysis laboratories.

I. LE LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS : SITUATION EN FRANCE

La France dispose d'environ 500 laboratoires effectuant des analyses microbiologiques sur des échantillons d'aliments d'origine animale ou végétale. Ils se répartissent schématiquement de la façon suivante :

— 1/3 possède un statut de fonctionnement *public* (laboratoires d'Etat, laboratoires vétérinaires départementaux, laboratoires des Facultés, des Ecoles, des Instituts de recherche...);

— 2/3 possèdent un statut de fonctionnement *privé* (laboratoires d'analyses médicales, laboratoires agro-alimentaires libéraux spécialisés ou non, laboratoires intégrés aux entreprises...).

La situation française se caractérise par une hétérogénéité considérable dans la taille, les moyens, l'environnement technique et scientifique des différentes unités : il existe en vérité peu de points communs entre les activités du service Recherche-Développement d'une grande entreprise multinationale et celles d'un laboratoire d'analyses médicales n'effectuant que quelques dizaines d'analyses par mois... ou même par an.

Pourtant, les problèmes posés à ces deux structures sont les mêmes : quel degré de fiabilité faut-il accorder aux résultats émis ?

Par ailleurs, l'internationalisation progressive des marchés nécessite une reconnaissance mutuelle des prestations fournies par les laboratoires. Dans cette optique, des organismes nationaux d'accréditation ont été mis en place dans au moins 17 pays. Les critères retenus dans la plupart des cas ne concernent que des principes relatifs à l'organisation générale des laboratoires, au matériel minimal nécessaire, l'encadrement scientifique et à la politique de suivi de qualité mise en place ; le volet « technique » est souvent peu développé : pour simplifier à l'extrême, les laboratoires souhaitant une accréditation se voient imposer une obligation de moyens plus qu'une obligation de résultats.

Il y a dans cette situation un risque de suspicion ou même de déconsidération vis-à-vis de leurs utilisateurs. Conscients de ce danger,

nous avons proposé la mise en place d'un système « d'autocontrôle » des performances des laboratoires français par le biais du *Réseau d'Analyses et d'Echanges en Microbiologie des Aliments (RAEMA)*.

II. STRUCTURE ET FONCTIONNEMENT DU RAEMA

Le RAEMA est un groupe d'étude émanant de deux associations sans but lucratif, l'Association Vétérinaire d'Hygiène Alimentaire (AVHA) et l'Association des Directeurs de Laboratoires Vétérinaires d'Analyses (ADILVA). Tous les laboratoires peuvent participer aux activités du RAEMA par leur adhésion à l'une ou l'autre de ces deux associations : l'AVHA (section de langue française de la *World Association of Veterinary Food Hygienists*) regroupe les laboratoires publics et privés autres que les laboratoires vétérinaires départementaux, qui disposent de leur propre association, l'ADILVA. Son objectif initial est la description en vraie grandeur des performances des laboratoires. Pour ce faire, il confectionne et envoie périodiquement des échantillons standard naturellement ou artificiellement contaminés ; il collecte les résultats et en réalise l'exploitation statistique.

Le RAEMA est animé par un Comité d'organisation de 16 membres, composé à parité d'adhérents élus des deux associations de tutelle ; il détermine les axes de recherche, la stratégie à adopter en fonction des circonstances techniques ou épidémiologiques ; il définit les objectifs qui serviront de base aux travaux du Comité exécutif.

Le Comité exécutif, dont le siège est au Service d'Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (Pr J. ROZIER, chef de service), est chargé de la concrétisation des souhaits du Comité d'organisation : il définit les modalités pratiques des différents envois d'échantillons standard (composition, taille, nature de la ou des contaminations). Il procède aux essais préalables afin de contrôler l'homogénéité et la stabilité des échantillons ; il assure le fonctionnement matériel du réseau (manipulations, secrétariat...). Par ailleurs, il reçoit les réponses des laboratoires, procède à leur codage afin de respecter un anonymat total. Les données rendues anonymes sont traitées par informatique ; en fonction des cas, différents paramètres statistiques sont calculés, reportés et interprétés dans une synthèse générale des résultats.

Chaque participant reçoit un compte rendu qui comprend :

- pour chaque critère quantitatif : l'histogramme des dénombrements, la moyenne, l'intervalle de confiance simplifié ;
- pour les autres critères, un descriptif général des réponses fournies ;
- des commentaires de portée générale.

De plus, chaque compte rendu est personnalisé par la représentation sur les graphiques de la position moyenne du laboratoire concerné.

Cette formule rencontre un succès réel : au départ de l'action (janvier 1988), 76 laboratoires se sont portés volontaires pour une telle action. Leur nombre atteint 125 début juin 1989.

III. PREMIERS RESULTATS ET PERSPECTIVES

Le RAEMA fonctionne depuis janvier 1988. Quatre envois d'échantillons standard ont fait l'objet d'une interprétation statistique. Cette première période de fonctionnement correspond, du point de vue « épidémiologique », au stade descriptif de la récolte d'informations. Dans ce cas, les laboratoires sont des « boîtes noires » dans la mesure où le choix des techniques utilisées est laissé aux responsables. Seuls importent les *résultats* et la qualification réglementaire qui aurait été portée sur le produit en fonction des directives de l'Arrêté Ministériel du 21 décembre 1979 relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certaines denrées animales ou d'origine animale.

a) NATURE DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons standard envoyés aux laboratoires participants étaient constitués :

— pour le premier envoi, de viande de porc crue salée à 3 % de sel nitrité sodique, séchée ($A_w = 0,91$) et broyée, contaminée par une souche de *Bacillus sp.* développant sur milieu de Baird-Parker, dans certaines conditions, une morphologie équivoque, proche de celle des staphylocoques. La taille de l'échantillon était de 40 kg, répartis en sachets individuels de 60 à 100 g conditionnés sous vide. Cinq sachets ont été adressés à chaque laboratoire en tant qu'échantillon standard ;

— pour le deuxième envoi : d'une poudre pour préparation de crème pâtissière (contenant : lait, œufs, sucre, arômes...) contaminée par un mélange d'entérobactéries, dont en particulier deux souches de salmonelles (*Salmonella typhimurium* et *Salmonella abony*). 50 kg de poudre ont été répartis en sachets individuels thermosoudés contenant environ 60 g de poudre. Cinq sachets ont été adressés à chaque laboratoire en tant qu'échantillon standard ;

— pour le troisième envoi : d'une poudre de blancs d'œufs pasteurisés contaminée par un mélange d'entérobactéries : *Escherichia coli*, *Citobacter freundii*, *Salmonella typhimurium*. 50 kg de poudre ont été répartis en flacons de 50 g. Cinq flacons ont été adressés à chaque laboratoire en tant qu'échantillon standard ;

— pour le quatrième envoi, le même substrat et le même conditionnement que ceux du troisième envoi ont été utilisés, mais la conta-

mination comprenait *Salmonella arizonae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*. Cinq flacons de 70 g ont été adressés à chaque laboratoire en tant qu'échantillon standard.

b) RÉSULTATS ET DISCUSSION

Des quatre comptes rendus détaillés qui ont été établis à la suite du dépouillement des résultats d'analyse, il est possible de tirer un certain nombre de remarques, concernant le fond et la forme de ces réponses.

Remarques de fond

• Interprétation des dénombrements

L'Arrêté du 21 décembre 1979 prévoit la réalisation des dénombrements sur milieux non sélectifs (flore totale) et sur milieux sélectifs (coliformes, entérobactéries, staphylocoques, anaérobies sulfito-réducteurs...) :

— l'exploitation des résultats des dénombrements effectués sur milieux non sélectifs montre systématiquement une répartition des valeurs de type « Loi normale », ce qui représentait l'éventualité la plus probable ;

— l'exploitation des résultats effectués sur milieux sélectifs fournit des histogrammes dont l'aspect est beaucoup moins typique. Diverses interprétations ont été avancées : divergences dans les techniques de préparation des milieux (âge, pH...), les techniques d'ensemencement (masse ou volume d'inoculum, température des milieux au moment de l'inoculation), les paramètres d'incubation (temps et température), la lecture des milieux, les erreurs de manipulation...

• Interprétation des recherches quantitatives

Trois éventualités peuvent se présenter :

— le laboratoire reconnaît la contamination ajoutée c'est l'éventualité la plus probable et la plus favorable ;

— le laboratoire effectue des erreurs par défaut : par exemple, il ne retrouve pas une salmonelle pourtant présente en quantité appréciable dans l'échantillon standard. Ainsi, au deuxième envoi, 22 % des laboratoires n'isolaient aucune salmonelle de la poudre de crème pâtissière, alors que l'échantillon en contenait deux souches, soit environ 1 000 salmonelles par gramme de poudre. Cette constatation paraît préoccupante au regard du rôle des laboratoires dans la protection de la santé publique. Elle met en évidence l'utilité de l'action conduite par le RAEMA en incitant les responsables à revoir leurs protocoles d'analyses. Cette démarche a d'ailleurs réellement été effectuée puisque le nombre des laboratoires n'isolant pas de salmonelles dans le troisième

envoi tombe à 2 %, les difficultés opératoires étant par ailleurs semblables à celles du deuxième envoi ;

— le laboratoire effectue des erreurs par excès : par exemple, il découvre des staphylocoques ou des shigelles alors que l'échantillon n'en contient pas... Ce point, beaucoup plus rare, est aussi préoccupant que le précédent dans la mesure où il aboutirait à la condamnation injustifiée de lots de fabrication parfaitement salubres.

Remarques de forme

Il n'existe pas de norme ou de consensus concernant la formulation des résultats : il a été constaté une forte disparité dans les libellés de réponse ; or, la clarté et la lisibilité d'un résultat sont des composantes essentielles de la qualité des prestations d'un laboratoire. Nos observations soulignent donc l'urgence de la rédaction d'un « guide des bonnes pratiques du laboratoire ».

c) PERSPECTIVES

A l'issue des quatre premiers envois, le Comité d'organisation envisage la poursuite des actions entreprises et l'extension des activités du RAEMA vers la définition des « bonnes pratiques du laboratoire » citées ci-avant, transcrites dans un manuel. Il prévoit également de faire procéder à des actions d'aide technique sur le terrain, dans les laboratoires qui en feraient la demande, à la diffusion d'informations techniques et scientifiques (méthodes rapides ou simplifiées, matériels, milieux de culture...), à la tenue de journées d'information ; la première d'entre elles a réuni le 26 avril 1989 plus de 150 personnes à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
