



## Le *challenge test* ou test d'épreuve microbiologique

CTSCCV

### RESUME

Un test d'épreuve microbiologique (ou *challenge test*) consiste à introduire des bactéries pathogènes dans un produit et à observer leur croissance, leur stabilisation ou leur décroissance au sein de ce produit. L'objectif d'une telle manipulation est l'étude des risques microbiologiques par rapport à un produit et s'inscrit donc dans une logique d'évaluation des risques (démarche HACCP). Le problème majeur actuel se situe au niveau de la fiabilité des résultats. En effet, beaucoup de paramètres peuvent les influencer (état physiologique des souches, protocole de réalisation du test, niveau d'ensemencement,...). Sa mise en œuvre suppose par ailleurs d'être faite avec un minimum de déontologie et d'harmonisation. C'est pourquoi, il s'agit avant tout d'un outil scientifique d'étude au service des fabricants de produits alimentaires et non de contrôle, et dont l'emploi ne doit pas être systématisé.

### DEFINITION

Le test d'épreuve microbiologique est un outil à la disposition de l'industrie agro-alimentaire. Il consiste à inoculer des bactéries pathogènes dans un produit alimentaire dans des conditions représentatives du mode de production prévu, et à observer leur évolution (croissance, "décroissance" ou stabilisation).

Le but d'un tel exercice est la simulation de l'évolution d'une flore bactérienne dans un produit alimentaire, aux différentes étapes de son élaboration (Notermans *et al.*, 1993) :

- traitement de conservation,
- incidence des recontaminations,
- stockage,
- distribution.

### DOMAINE D'APPLICATION

Le test d'épreuve microbiologique est prioritairement dédié au développement des produits nouveaux. Il peut aussi être mis en œuvre lorsque l'on vise de nouveaux objectifs, par exemple une durée de vie prolongée.

Un *challenge test* n'est pas une épreuve pertinente pour des produits traditionnels dans les conditions habituelles de mise en marché, pour lesquels le recul de l'expérience assure la salubrité et la sécurité, éprouvées et confirmées par la pratique des tests classiques de validation des DLC.

**LES DIFFERENTS TESTS D'EPREUVE MICROBIOLOGIQUE (Thuault, 1997)**

On en distingue deux :

- **Un test d'épreuve microbiologique produit :** il s'agit de déterminer le devenir des micro-organismes dans le produit au cours de sa conservation. Les caractéristiques du produit fabriqué, les conditions de conservation et de manipulation doivent être identiques à celles des séries industrielles.

- **Un test d'épreuve microbiologique procédé :** il s'agit de mesurer l'effet du procédé sur les micro-organismes et de mettre en évidence des micro-organismes survivant au procédé ainsi que leur évolution ultérieure dans le produit, jusqu'à la DLC. Le produit doit être fabriqué de manière bien contrôlée et identique au diagramme de fabrication utilisé pour les séries industrielles. Dans certains cas (exemple : un léger changement de process), le test d'épreuve peut n'être réalisé que sur une ou quelques étapes.

**LES ETAPES DE LA REALISATION DES CHALLENGE TESTS (Notermans *et al.*, 1993)**

- 1. **description du test** →
  - { Approche de l'expérience
  - { Reproductibilité/répétabilité
  - { Sécurité
  
- 2. **inoculation** →
  - { Choix de l'inoculum
  - { Méthode de conservation des souches
  - { Préparation de l'inoculum
  - { Taille de l'inoculum
  - { Méthode d'inoculation
  
- 3. **réalisation du test** →
  - { Temps et température d'incubation
  - { Taille du prélèvement et fréquence
  - { Procédure
  
- 4. **interprétation des résultats**

La mise en œuvre d'un *challenge test* est très délicate parce qu'elle suppose notamment :

- une parfaite connaissance de la recette et du procédé devant être mis en œuvre ;
- la répétabilité du mode de production ;
- la connaissance de l'état physiologique des micro-organismes tel qu'il résulte de leur histoire antérieure et tel que modifié par le procédé ;
- l'utilisation de flores pathogènes potentiellement présentes ou déjà rencontrées dans les matières premières ou l'environnement du site de production ;
- le choix pertinent du niveau des surcharges microbiennes et du stade d'inoculation.

### LES LIMITES DE LA METHODE ACTUELLE

Un certain nombre de problèmes quant à la réalisation des *challenge tests* restent sans réponse à ce jour. C'est le cas par exemple de l'influence de l'état physiologique des souches sur le résultat, qui n'est généralement pas suffisamment pris en compte. En effet, de nombreuses publications montrent que des stress influent sur la croissance bactérienne (Cornec, 1997 ; Humphrey *et al.*, 1993 ; Kroll et Patchett, 1992).

De plus, le protocole de réalisation des tests (mode d'inoculation, quantité d'échantillon...) manque souvent de précision. Enfin, l'interprétation des résultats reste floue et doit être confiée à un

microbiologiste ayant déjà une expérience des *challenge tests* (Notermans *et al.*, 1994).

Tous ces points font aujourd'hui du *challenge test* une méthode aux résultats dont l'interprétation est délicate, d'autant plus que l'expertise dans ce domaine en est encore à ses balbutiements.

### EN CONCLUSION

Le *challenge test* ou test d'épreuve microbiologique est, avant tout, un outil scientifique au service des fabricants de produits alimentaires qui souhaitent mieux appréhender certaines des caractéristiques de leurs produits ou de leurs procédés, faire évoluer leurs recettes ou leurs technologies, tester l'aptitude à la conservation de produits nouveaux...

C'est un outil complexe dont la fiabilité dépend de nombreuses conditions difficiles à réunir. Sa mise en œuvre suppose par ailleurs d'être faite avec un minimum de déontologie et d'harmonisation. Son emploi ne doit pas être systématisé : c'est un outil d'étude et non de contrôle.

La meilleure réponse en matière de sécurité des produits est apportée par la mise en œuvre d'un système de type HACCP fonctionnant avec efficacité et/ou l'application de guides de bonnes pratiques d'hygiène et la réalisation régulière de tests de validation des DLC, dont le cumul des résultats sur une longue période apporte les informations les plus fiables sur le comportement du produit au regard de la sécurité alimentaire.

Le CTSCCV est à la disposition des entreprises pour conduire avec elles les tests de validation des DLC et les *challenge tests* dont elles ont besoin.

**BIBLIOGRAPHIE**

CORNEC G. (1997). Mise en place d'un protocole de revivification des bactéries stressées par un traitement thermique, *Enterococcus faecalis*. Rapport de stage ESMISAB.

HUMPHREY T.J., RICHARDSON N.P., STATTON K.M. et ROWBURRY R.J. (1993). Effects of temperature shift on acid and heat tolerance in *Salmonella enteritidis* phase type 4. Applied and environmental microbiology, 59, 3120-3122

KROLL R.G. et PATCHETT R.A. (1992). Induced acid tolerance in *Listeria monocytogenes*. Letters in Applied Microbiology, 14, 224-227.

NOTERMANS S., INT'VELV P., WITLZES T. et MEAD G.C. (1993). An user's guide to microbial challenge testing for ensuring the safety and stability of food products. Food Microbiology, 10, 145-147.

NOTERMANS S. et INT'VELV P. (1994). Microbiological safety of food products. International Journal of Food Microbiology, 24, 33-39

THUAULT D. (1997). Utilisation critique des tests d'épreuve en hygiène alimentaire : rôle, mise en œuvre et limites des tests d'épreuve microbiologique. Bulletin de la Société Française de Microbiologie, 12(3)

Pour tous renseignements complémentaires,  
contacter :  
Pascal GARRY  
Tél. 01 43 68 57 85 – Fax 01 43 76 07 20  
E-mail : [garry@vet-alfort.fr](mailto:garry@vet-alfort.fr)