

# POINT SUR L'ACTIVITE DU GROUPE DE TRAVAIL "MILIEU TBX" DE LA COMMISSION AFNOR V08B "MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS"

## PARTIE 1 : CONSTAT

Les géloses tryptone-bile-glucuronide (TBX) et peptone-tergitol-glucuronide (PTX) sont des milieux chromogènes de même principe qui permettent la numération des *E. coli* par leur caractère positif pour la  $\beta$ -D-glucuronidase, présente dans environ 95% des *E. coli* des produits alimentaires, le sérotype pathogène O157:H7 en est par exemple dépourvu.

Décrit depuis 1993 dans une norme de routine au niveau national (NF V08-053), le milieu PTX semblait poser des problèmes de sélectivité. En effet, le tergitol 7, agent sélectif de ce milieu, est connu pour son manque de sélectivité. Par la suite, la non-commercialisation du tergitol 7, a contribué au remplacement fin 2002 du milieu PTX par le milieu TBX. Ce milieu était déjà normalisé au niveau international depuis 2001 (ISO 16649 parties 1 et 2) et avait été choisi suite à la réunion ISO SC9 en 1997, où avaient été présentées des comparaisons entre différents milieux chromogènes sur différentes matrices. Au regard de ces résultats, le milieu TBX ne semblait cependant pas avoir des performances nettement supérieures aux autres milieux chromogènes.

Suite à l'utilisation de ce nouveau milieu, plusieurs laboratoires ont rencontré des difficultés, en particulier pour l'analyse des produits laitiers. Ces observations sont reprises dans ce premier article. Un second article fera le point sur l'activité du « groupe de travail TBX » créé suite à ces constats.

### 1) PROBLEMES RENCONTRES DANS DIFFERENTS LABORATOIRES

#### 1.1 Comparaison entre les milieux PTX et TBX

Début 2003, lors de la mise en place du nouveau milieu normalisé TBX à la place du milieu PTX, 2 laboratoires analysant des produits laitiers nous ont alertés de résultats discordants entre ces géloses.

#### - Résultats obtenus dans des échantillons naturellement contaminés :

Le laboratoire L1 a comparé les résultats obtenus sur TBX et PTX d'un même fournisseur (E) sur 25 échantillons de lait cru. Globalement, ce laboratoire a observé une forte inhibition avec le milieu TBX dans le lait cru (-0,7 log en moyenne). Par contre, les colonies n'ont pas été identifiées.

Le laboratoire L2 a comparé les numérations obtenues avec 5 fournisseurs de TBX prêt à l'emploi par rapport à un milieu PTX sur des échantillons de fromages en majorité au lait cru. Globalement, peu de différences ont été observées (en moyenne +/- 0,1 log selon le fournisseur), mais sur un lot d'un fournisseur de TBX (B), les colonies étaient non dénombrables car peu ou pas visibles, alors que des numérations importantes étaient obtenues sur le milieu PTX et sur 2 autres milieux TBX. A noter que ce lot était proche de la date limite d'utilisation.

#### - Résultats obtenus dans les échantillons des essais d'aptitude CECALAIT :

#### Essai d'aptitude *E. coli* dans le lait de février 2003 (5 échantillons) :

Le laboratoire L1 a testé différents fournisseurs pour les milieux TBX et PTX. Les 2 milieux PTX donnaient des résultats situés dans la cible de conformité (+/- 0,3 log par rapport à la référence), alors que les 3 milieux TBX ont donné en moyenne une sous estimation importante (- 0,4 à - 0,8 log).

Le laboratoire L2 a comparé 4 fournisseurs différents de TBX et un de PTX, un seul milieu TBX (fournisseur C) était hors limite (- 0,4 log en moyenne).

Le laboratoire CECALAIT a obtenu par contre des résultats identiques et dans la cible de conformité en utilisant des milieux TBX et PTX du même fournisseur (A) à partir de milieu déshydraté. Avec du milieu TBX du même fournisseur notre laboratoire a toujours obtenu de bons résultats dans les essais d'aptitude.

#### Essai d'aptitude *E. coli* dans le fromage de décembre 2002 (5 échantillons) :

Le laboratoire L1 avait comparé encore une fois les milieux TBX et PTX du même fournisseur (E) : PTX était dans la cible de conformité, alors que TBX sous-estimait en moyenne de 0,9 log par rapport à la référence.

## **1.2 Autres problèmes rencontrés dans les essais d'aptitude CECALAIT**

Par la suite, d'autres laboratoires nous ont fait part de difficultés de numération avec le milieu TBX dans les essais d'aptitude. Par exemple le diluant tampon phosphate utilisé en association avec le milieu TBX peut avoir un effet inhibiteur, cet effet n'est pas observé avec le diluant Ringer au ¼ ou sur d'autres matrices.

Ces problèmes sont plus souvent rencontrés dans les milieux prêts à l'emploi que dans ceux préparés à partir de milieu déshydraté, et peuvent concerner tous les milieux proposés par les différents fournisseurs bien qu'apparaissant ponctuellement en fonction des lots utilisés.

## **2) INTERPRETATION GLOBALE DES ESSAIS D'APTITUDE CECALAIT**

*Note : les essais d'aptitude permettent d'évaluer les performances d'un laboratoire mais non pas la performance d'une méthode ou d'un fournisseur. Néanmoins, cette vision globale peut nous alerter sur des tendances générales.*

A partir de juin 2003, où l'utilisation dans les laboratoires du milieu TBX a commencé à se généraliser, nous avons constaté globalement une

dispersion plus forte des résultats des essais d'aptitude *E. coli*, et de façon plus sensible dans le fromage que dans le lait. Avec le milieu PTX, d'une manière générale, les résultats étaient plus regroupés.

Nous avons donc essayé d'interpréter plus en détail les essais d'aptitude *E. coli* dans le fromage. Nous avons ainsi observé pour le milieu TBX un pourcentage plus important de résultats hors cible que pour les autres milieux, et généralement en sous estimation. En repérant les fournisseurs sur les cibles il n'a pas été possible de montrer un effet fournisseur constant dans le temps. De même la sous estimation des milieux prêts à l'emploi par rapport aux formules déshydratées n'a pas été franchement démontrée. Cependant, les dernières observations tendent à montrer que la situation a tendance à s'améliorer.

Suite à ces constats, la commission V08B a décidé de créer un groupe de travail pour regrouper ces observations, les étudier et essayer d'y apporter des solutions. Organisé par l'AFNOR, ce groupe de travail animé par P. ROLLIER de CECALAIT regroupe une dizaine de membres fournisseurs ou utilisateurs et s'est réuni 3 fois entre 2004 et 2005. Les activités et conclusions de ce groupe seront exposées dans la seconde partie de cet article dans la Lettre de CECALAIT du trimestre prochain.

P. ROLLIER