



CENTRE D'EXPERTISE ET DE CONTROLE
DES ANALYSES LAITIÈRES

2005
4^{ème} trimestre
N°55

LA LETTRE DE CECALAIT

Point sur l'activité du groupe de travail "milieu TBX" de la Commission AFNOR V08B "Microbiologie des Aliments" - Partie 2 : activités du groupe de travail	6-7
<i>Enterobacter sakazakii</i> : présentation de l'étude menée par l'AFSSA	5-6
Rôle, fonctionnement et principaux travaux du comité Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage	7-8
Validations AFNOR	9
Réglementation : France, Union européenne	10
Congrès, salons, colloques	10
Normes, projets de normes	11
Revue de presse – Revue du net	12
Librairie	13
Références bibliographiques avec table des matières, mots clés	annexe

Toute l'équipe de CECALAIT
vous adresse ses
MEILLEURS VOEUX pour 2006

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

PARTIE 2 : ACTIVITES DU GROUPE DE TRAVAIL

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 β -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 ont été reprises dans un premier article dans « La lettre de CECALAIT » N° 54. 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 sont exposées dans cette seconde partie.

1) ETUDE DE COMPARAISON DE METHODES REALISEE PAR L'AFSSA

Suite à des remarques émanant du réseau européen lait, l'AFSSA a mené une étude de comparaison de différentes méthodes. Une partie de cette étude a été présentée au groupe de travail TBX. Nous avons repris ici uniquement la conclusion concernant le milieu TBX :

- L'étude portait sur la comparaison des différentes parties de l'ISO 16649 : 2001 (partie 1 ensemencement sur membrane et en surface ; partie 2 ensemencement en profondeur ; partie 3 par méthode NPP). A signaler que ces essais ont été menés avec des milieux TBX provenant d'un seul fournisseur.
- Concernant l'utilisation du milieu TBX (parties 1 et 2) les résultats ont montré que sur des fromages naturellement contaminés, la partie 1 est soit équivalente à la partie 2, soit permet de récupérer plus d'*E. coli* que la partie 2, en particulier pour les échantillons contenant des bactéries stressées. Mais la partie 1 demande une étape supplémentaire de récupération sur membrane peu pratique à mettre en œuvre, et explique pourquoi pratiquement aucun laboratoire ne l'applique.

Ainsi, les études présentées dans les paragraphes 2 et 3 ont été réalisées selon le protocole de la partie 2 ou de la norme NF V08-053 : 2002 pratiquement équivalent.

2) PROBLEMES POSES PAR LES MILIEUX PRETS A L'EMPLOI

Le groupe de travail s'est plus particulièrement intéressé aux milieux prêts à liquéfier qui semblaient poser plus de problèmes que les milieux reconstitués à partir de poudre. En effet, certains laboratoires ont remarqué que les milieux TBX prêts à l'emploi en flacons semblaient plus fragiles et plus sensibles à la chaleur que les milieux préparés en déshydratés, avec en particulier, une couleur plus diffuse des colonies.

Le laboratoire L2 a ainsi comparé des milieux TBX du même fournisseur en prêt à l'emploi ou préparés à partir de milieu déshydraté sur des échantillons naturellement contaminés de fromages au lait cru et sur un essai d'aptitude CECALAIT dans le lait :

- Sur les échantillons de fromages au lait cru, ce laboratoire a observé des numérations un peu plus faibles ou de même ordre qu'en déshydraté. Un seul échantillon montre une sous-estimation très élevée (1,7 log).
- Sur les échantillons de l'essai d'aptitude, les différences sont plus élevées (entre 0,6 et 0,8 log), ceci peut s'expliquer par la nature des échantillons : ils sont artificiellement contaminés avec un mélange de 3 souches et contiennent un conservateur bactériostatique qui peut entraîner un stress supplémentaire des bactéries.

Un autre laboratoire a remarqué qu'un milieu préparé à partir de milieu déshydraté non autoclavé était plus

performant qu'après autoclavage, mais cette pratique n'a pas été cautionnée par les fournisseurs.

A CECALAIT, nous avons également observé sur un milieu préparé en déshydraté une performance décroissante dans le temps (voir essais de performance décrits ci-dessous).

Il est fort probable qu'un composé contenu dans le milieu TBX soit très sensible à certains facteurs et à la chaleur en particulier. Il est peut-être nécessaire de mieux sensibiliser les laboratoires sur les bonnes pratiques d'utilisation des milieux prêts à l'emploi : comme par exemple la température de conservation qui peut agir sur la stabilité du chromogène ou bien limiter au minimum le temps de chauffage du milieu pour le ramener sous forme liquide, et l'utiliser ensuite rapidement.

3) TESTS DE PERFORMANCE DE MILIEUX

Les membres du groupe de travail se sont ensuite penchés sur les tests de performance pour savoir tout d'abord s'ils étaient souvent mis en œuvre par les laboratoires et ensuite s'ils pouvaient mettre en évidence un défaut de croissance.

3.1 Principe général des tests de performance

Le protocole de réalisation de ces tests de performance et les souches à utiliser sont généralement décrits dans la norme ISO/TS 11133-2 et seraient à réaliser par les laboratoires dans le cas de milieux préparés à partir de milieu déshydraté. Pour le milieu TBX, les souches à tester sont décrites dans la norme de routine NF V08-053. Les milieux sont validés après avoir passé avec succès un test de stérilité et des tests de croissance. Pour chaque test de croissance, le milieu à évaluer est comparé à un milieu de référence non sélectif, TSA (Tryptone-Soja-Agar) en général.

3 tests de croissance sont décrits :

- **La productivité** : concerne des souches dénombrées ou recherchées par le milieu testé et permet d'apprécier la performance du milieu pour la croissance de ces souches.
- **La sélectivité** : au contraire, concerne des souches non dénombrées ou recherchées par le milieu testé. La sélectivité mesure la capacité du milieu à inhiber totalement ces souches.
- **La spécificité** : dans la même catégorie, permet d'évaluer la culture des souches présentant un aspect non caractéristique.

En ce qui concerne le milieu TBX, le protocole et les souches décrits dans les normes pour tester la sélectivité semblent convenir. Il existait cependant un problème sur la référence d'une souche préconisée en spécificité dans la norme NF V08-053. Le groupe de travail a étudié cette question et deux souches ont été proposées en remplacement lors de la commission V08B du 22 mars 2005 (point 4- PV 165).

Le groupe de travail s'est penché plus particulièrement sur les tests de productivité dans les études décrites ci-dessous, puis a réalisé une enquête sur l'utilisation de ces tests de performance dans les laboratoires utilisateurs.

3.2 Tests de productivité sur le milieu TBX

3.2.1 Tests de productivité réalisés par un laboratoire d'analyses début 2003:

Les tests de productivité ont été réalisés sur une souche de *E. coli* isolée de produits alimentaires mais différente de celles décrites dans la norme NF V08-053 par ensemencement en profondeur en milieux PTX et TBX. Ces tests ont mis en évidence l'inhibition de *E. coli* sur tous les milieux TBX provenant de 4 fournisseurs différents préparés sous forme déshydratés ou en prêts à l'emploi. Ces tests ont permis de valider le milieu PTX sous forme déshydraté mais non en prêt à l'emploi.

3.2.2 Tests de productivité réalisés en juillet 2004 sur les souches utilisées dans les essais d'aptitude CECALAIT

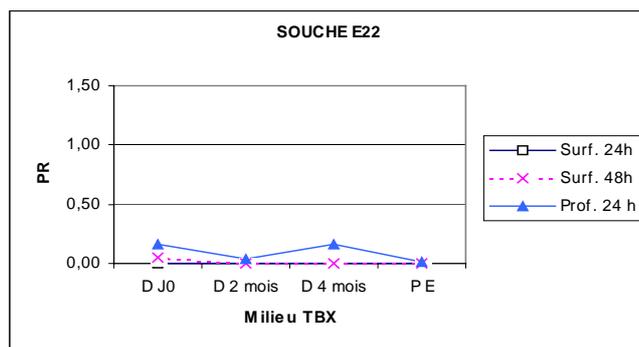
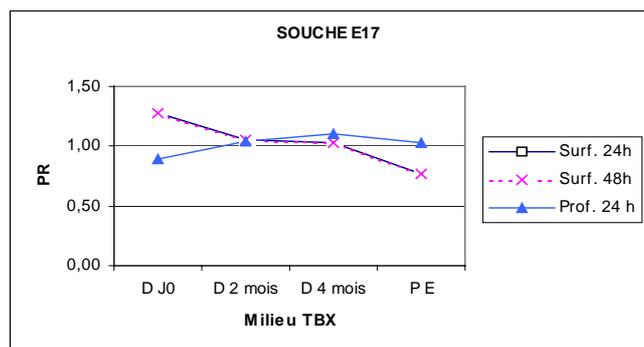
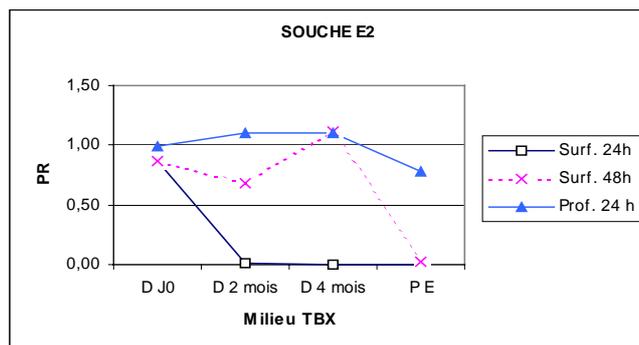
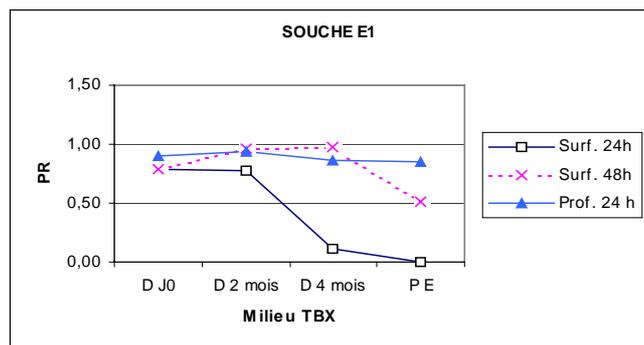
L'objectif de cette étude réalisée dans le laboratoire de CECALAIT était de savoir si les souches utilisées dans les essais d'aptitude étaient sensibles à l'effet milieu, et si l'on obtenait des différences de productivité en fonction du mode de préparation des milieux, leur temps de stockage et aussi en fonction de l'inoculation pour la réalisation des tests de performance en surface ou en profondeur.

Les 4 souches testées sont celles habituellement utilisées dans les essais d'aptitude CECALAIT, et ont été isolées à partir d'échantillons de produits laitiers.

4 types de milieux d'un même fournisseur (A) ont été testés : milieu TBX en déshydraté préparé le jour de l'étude (J0), le même milieu utilisé 2 et 4 mois après préparation ; milieu TBX en prêt à l'emploi (PE) ; avec le milieu TSA-YE (Tryptone-Soja-Agar et Extrait de Levure) utilisé en référence.

Les boîtes ont été ensemencées en surface (système Spiral) et en profondeur, et incubées 24 et 48 h à 44 +/- 1°C. La productivité (PR) a été calculée en fonction de ces différents facteurs, le critère de validation d'un lot étant PR>0,5.

Les résultats présentés dans les figures ci-dessous montrent l'influence de différents facteurs sur la productivité du milieu TBX :



- 1- **Effet souche** : On constate que suivant la souche testée, elle peut être soit toujours inhibée (E22), jamais inhibée (E17) ou avoir une réponse différente selon les milieux (E1 et E2). D'après ces résultats la souche E22 serait du même type que la souche de l'étude décrite ci-dessus, inhibée quel que soit le type de TBX utilisé. La question qui se pose est de savoir à quelle fréquence ce type de souches est rencontré dans les produits naturellement contaminés, ce qui pourrait expliquer les problèmes rencontrés ponctuellement dans les échantillons naturels. Suite à cette étude, la souche E22 n'est plus utilisée dans les essais d'aptitude CECALAIT.
- 2- **Effet milieu** : Un effet milieu est constaté sur les souches E1 et E2. Les milieux classés en performance décroissante sont : le milieu déshydraté préparé à J0 – préparé 2 mois avant – préparé 4 mois avant – milieu prêt à l'emploi. La durée de stockage des milieux préparés ne doit normalement pas dépasser 3 mois au réfrigérateur (ISO/TS 11133-1). Le milieu TBX préparé en flacon voit ses performances diminuer au cours du stockage, et d'autre part doit subir un chauffage supplémentaire avant utilisation, ce qui pourrait expliquer, au moins en partie, le manque de performance du milieu prêt à l'emploi testé ici.
- 3- **Effet du type d'ensemencement** : L'inhibition est plus importante en surface qu'en profondeur et permet d'obtenir des effets milieu plus

importants. Dans le cas d'un ensemencement en surface, une incubation prolongée de 24 heures permet d'obtenir des colonies dénombrables, qui sans doute ne s'étaient pas développées ou n'exprimaient pas la couleur bleue en 24 heures. Cet effet avait déjà été observé sur des échantillons d'essais d'aptitude ou lyophilisés. La norme ISO/TS 11133-2, actuellement, laisse le choix sur le mode d'inoculation, il est noté en chapitre 5.3.1.2 note 2 : « La méthode d'ensemencement en profondeur peut aussi être utilisée pour les milieux de culture normalement utilisés pour le dénombrement par cette méthode ». Le groupe de travail a donc décidé de proposer une nouvelle rédaction plus directive pour les tests quantitatifs : le choix est encore laissé entre une inoculation en surface ou en profondeur, mais il est précisé que l'ensemencement du milieu doit se faire de la même façon que celui décrit dans la norme correspondant au milieu testé. Cette proposition a été transmise pour approbation au groupe de travail chargé de la révision de la norme ISO/TS 11133-2.

3.3 Enquête sur la réalisation de tests de performance dans les laboratoires

- **Objectifs de l'enquête** : La question que s'est posée le groupe de travail était de savoir si ces tests pouvaient détecter un lot susceptible ensuite de poser des problèmes lors de son utilisation. C'est pourquoi, il a été décidé d'envoyer en

septembre 2004 une enquête aux membres de la commission V08 B afin de savoir, tout d'abord, si des problèmes étaient souvent rencontrés lors de l'utilisation du milieu TBX, si des tests de performance étaient souvent réalisés et, dans ce cas, s'ils permettaient d'écarter des lots pour lesquels des problèmes avaient été constatés.

- **Résultats de l'enquête :** Seulement 6 laboratoires sur 95 sollicités ont répondu. Le problème le plus souvent rencontré (3 laboratoires) est la croissance d'autres bactéries non cibles, mais ceci ne serait pas lié à l'utilisation de milieu prêt à l'emploi. Un seul laboratoire réalise des tests de performance mais avec un protocole et avec des souches différentes de ceux décrits dans les normes. Ces tests n'ont pas pu mettre en évidence le problème de non-spécificité observé par ce laboratoire dans ses analyses de routine.

Les tests de performance normalisés sont à priori peu ou pas mis en œuvre dans les laboratoires utilisateurs du milieu TBX, ils ne sont à priori réalisés que chez les fournisseurs. Tous les milieux commercialisés sont conformes à l'issue de ces tests, qui sans doute ne peuvent pas mettre en évidence les problèmes décrits ci-dessus.

4) CONCLUSION

Dès les premières utilisations du milieu TBX en remplacement du milieu PTX pour la numération des *E. coli* dans les aliments, certains laboratoires analysant des échantillons naturellement contaminés ou des échantillons des essais d'aptitude CECALAIT ont constaté ponctuellement des problèmes d'inhibition plus ou moins marqués sur le milieu TBX. A signaler que le conservateur bactériostatique contenu dans les échantillons de ces essais d'aptitude peut engendrer un stress supplémentaire des souches par rapport à un échantillon naturel et, de ce fait, peut accentuer les problèmes constatés sur certains lots.

Le groupe de travail a montré qu'il peut exister des effets liés à différents facteurs :

- l'échantillon (type de souche, état physiologique des souches, matrice),
- le milieu lui-même (lot, mode de préparation et de stockage),
- la méthode (diluant, mode d'ensemencement)...
- et peut-être d'autres facteurs non encore identifiés.

Ces effets en se cumulant peuvent sans doute générer des différences importantes dans les numérations.

En travaillant sur les tests de performance de milieux, le groupe de travail a montré que ces tests ne

semblaient pas pouvoir mettre en évidence ce type d'inhibition, et que de toute façon peu de laboratoires utilisateurs les appliquaient.

Ce groupe de travail n'a cependant pas pu mettre en évidence l'origine de ce problème, lié plus à une variabilité de lots qu'à un fournisseur particulier. La différence entre les milieux PTX et TBX provient essentiellement de leur composition différente en peptones (peptone de viande pour PTX et de caséine pour TBX) et en agents sélectifs (tergitol 7 pour PTX et sels biliaires n° 3 pour TBX). Il est connu que l'utilisation d'ingrédients biologiques de composition chimique pas bien définie, comme le sont les peptones et les sels biliaires, peut entraîner des variabilités de culture non négligeables. A signaler cependant que la norme ISO/TS 11133-2 (4.1.2) permet des tolérances dans les quantités d'ingrédient à mettre en œuvre pour la fabrication d'un lot de milieu, afin que les fournisseurs de milieux puissent optimiser leur formule. Une étude bibliographique⁽¹⁾ réalisée par un des membres de ce groupe de travail montre que les sels biliaires peuvent avoir en fonction de leur nature un effet inhibiteur plus ou moins marqué sur *E. coli*. Il faut cependant noter que les sels biliaires n°3 entrant dans la composition du TBX sont mieux définis chimiquement que des sels biliaires classiques. Ils sont également bien purifiés et stables.

Pour solutionner ce problème, la seule issue envisageable était de retravailler sur la composition et de proposer un nouveau milieu en normalisation. Cette proposition a été rejetée pour le moment par le groupe de travail, sachant que les problèmes sur le milieu TBX semblent être moins fréquemment rencontrés. De plus, cette étude demanderait un travail technique très important et très long de mise au point supporté par les laboratoires adhérents des organismes de normalisation.

Le groupe de travail « TBX » n'ayant pas trouvé l'origine de cette variabilité, son activité a été suspendue, mais nous restons à l'écoute des utilisateurs et referons un point dans la « Lettre de CECALAIT » pour vous informer, le cas échéant, sur de nouveaux éléments.

Patricia ROLLIER

(1) Cette étude bibliographique peut vous être fournie sur simple demande

Nous remercions tout particulièrement :

- *Les laboratoires utilisateurs qui ont bien voulu nous faire part de leurs résultats*
- *Les membres du groupe de travail*

ENTEROBACTER SAKAZAKII :

PRESENTATION DE L'ETUDE MENEES PAR L'AFSSA

(EVALUATION DU PROJET DE METHODE NORMALISEE FIL-ISO POUR LA DETECTION D'ENTEROBACTER SAKAZAKII DANS LES POUDRES DE LAIT ET PRODUITS DESHYDRATES POUR NOURRISSONS)

Résumé de l'intervention de Mme GNANOU-BESSE (AFSSA) lors de l'assemblée générale 2005

Enterobacter sakazakii est un bacille Gram-négatif, de la famille des Entérobactéries.

Il a été identifié comme agent pathogène dans de rares mais graves infections néonatales pouvant provoquer des méningites, septicémies ou entérocrites. C'est une maladie peu fréquente (quelques dizaines de cas depuis les années 60), mais avec un taux de létalité de 20 à 50%. Chez l'adulte, elle a très rarement provoqué des infections, même chez des individus présentant déjà des pathologies graves.

Dans la plupart des cas, la consommation de préparations lactées déshydratées pour nourrissons a été mise en cause. Un exemple assez récent en France est l'épisode de cas groupés d'infections néonatales dues à la contamination de produits déshydratés pour bébé en décembre 2004.

Largement répandue dans les environnements agroalimentaires et domestiques comme tous les coliformes, *E. sakazakii* est surtout recherchée dans les poudres de lait. Une étude canadienne montre que cette bactérie est présente dans 6,7% des poudres de lait, mais les taux de contamination sont en général très faibles, inférieurs à 1 UFC/100 g. La dose infectieuse étant supposée avoisiner les 1000 bactéries, un problème de préparation et de stockage des biberons peut sans doute être mis en cause dans les cas d'infections néonatales.

Un projet de norme pour la détection d'*E. sakazakii* dans les poudres de lait et produits déshydratés pour nourrissons a été proposé en 2004 à la FIL (voir figure 1). L'AFSSA LERQAP en tant que Laboratoire Communautaire de Référence pour le lait et les produits laitiers (Directive européenne 92/46) a décidé de tester cette méthode. Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer les performances de cette méthode et son applicabilité aux poudres de lait pour nourrissons, et de comparer différents milieux d'isolement disponibles. Les critères de performance suivants ont été étudiés : (i) inclusivité et exclusivité; (ii) limite de détection; (iii) performance de la méthode pour l'analyse de produits naturellement contaminés.

Pour l'étude d'inclusivité et d'exclusivité, 28 souches d'*E. sakazakii* et 16 souches d'Entérobactéries non-*E. sakazakii* ont été étudiées. Le protocole d'analyse complet a été suivi avec l'isolement sur 4 géloses: 3 milieux chromogènes, ESIATM (AES Laboratoires), DFITM (Oxoid, Dardilly, France), et ESIATM fabriqué dans notre laboratoire selon la formule précisée dans le projet de norme, et un milieu pour Entérobactéries, le VRBG.

Les résultats obtenus sont similaires pour tous les milieux chromogènes et identiques entre ESIATM prêt à l'emploi et préparé au laboratoire.

Concernant l'aspect des colonies obtenues sur ces milieux, la spécificité et la sensibilité sont bonnes, par contre la spécificité n'est que de 50% sur milieu VRBG. En effet, sur ce milieu toutes les colonies d'Entérobactéries apparaissent typiques.

Les performances de la méthode sont cependant altérées par l'étape de sélection des colonies par la production d'un pigment jaune après étalement et culture sur milieu non sélectif TSA. La sensibilité des 4 milieux testés diminue fortement après cette étape. En effet, certaines souches d'*E. sakazakii* (environ 20%) n'ont pas l'aspect typique de pigmentation jaune sur TSA.

Sur milieu chromogène, mais principalement sur DFITM, la définition de la couleur des colonies typiques devrait être élargie, car elle ne permet pas de détecter la totalité des souches d'*E. sakazakii* testées.

Afin d'évaluer la limite de détection, des échantillons de produits déshydratés pour bébé ont été testés à 3 niveaux de contamination allant de 5 UFC/100 g à 50 UFC/25 g, et en l'absence de contamination. Les analyses ont été répétées 6 fois par niveau, et 2 fois pour le blanc. La limite de détection a ainsi été déterminée pour 3 souches d'*E. sakazakii*.

Les résultats montrent des détections positives à tous les taux de contamination, sauf bien entendu pour les blancs, avec des résultats similaires pour les 4 milieux d'isolement testés.

Les limites de détection obtenues sont toutes inférieures à 10 UFC/100 g, la plus basse étant de 4 UFC/100 g.

Les analyses d'échantillons naturellement contaminés ont été réalisées à partir de 100 g sur 3 produits déshydratés pour nourrissons impliqués dans des infections néonatales, en suivant le protocole préconisé dans le projet de norme, et en testant les 4

milieux d'isolement incubés à 37°C et 44°C, températures préconisées respectivement pour DFITM et ESIATM. Dans tous les cas, *E. sakazakii* a été détecté. A noter, cependant, que sur milieu TSA des colonies pigmentées en jaune ou blanc ont été obtenues. Pour le milieu DFITM, une incubation à 44°C est moins performante, et la température préconisée par le fabricant reste préférable.

En conclusion, la méthode de détection d'*E. sakazakii* telle que décrite dans le projet de norme ISO/FIL, apparaît sensible et sélective, mais pourrait être améliorée moyennant quelques modifications :

- Elargir la définition des colonies typiques sur milieu chromogène
- Prendre en compte le problème posé par les souches non pigmentées qui sont apparues fréquemment dans notre étude. Une des solutions envisageables serait de repiquer la totalité des souches apparaissant typique sur milieu chromogène, et peut-être d'ajouter un test biochimique supplémentaire avant l'identification complète (activité Tween 80 estérase ?).

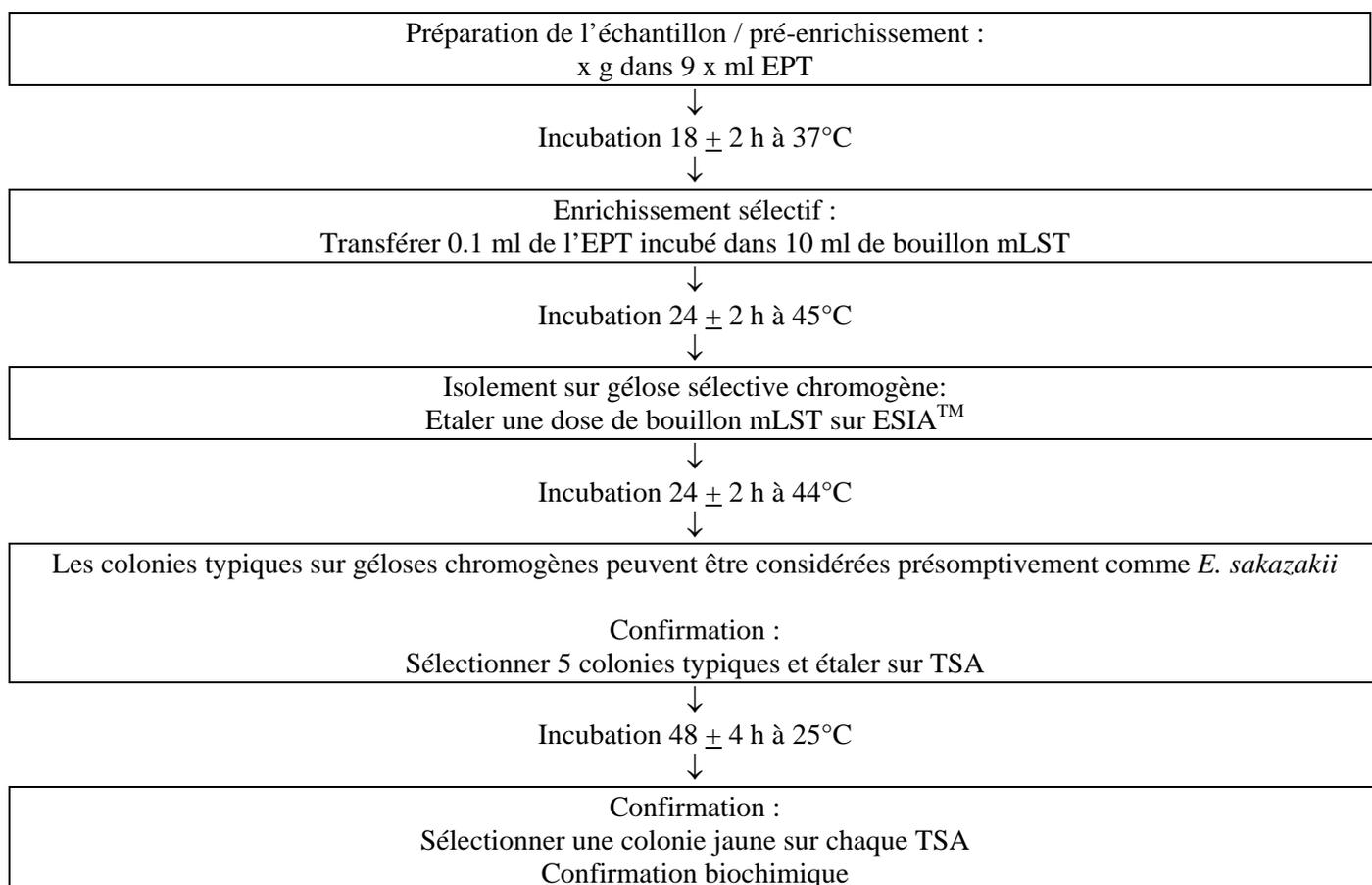
Dans cette méthode, la gélose DFITM pourrait être employée au même titre que la gélose ESIATM, ces deux milieux ayant montré des performances similaires. Le milieu VRBG a montré des performances relativement correctes du fait de la sélectivité de l'étape d'enrichissement liquide, et pourrait par conséquent être utilisé en complément d'un milieu chromogène.

Nous avons montré également dans cette étude que le milieu ESIATM préparé au laboratoire permettait d'obtenir des résultats équivalents à celui prêt à l'emploi.

Une étude complémentaire, basée sur l'analyse d'un plus grand nombre d'échantillons naturellement contaminés, est actuellement en cours de réalisation à l'AFSSA LERQAP.

Concernant l'évolution de la normalisation de cette méthode, un nouveau projet a été diffusé en août 2005 pour commentaires, avec comme modification principale une incubation du bouillon d'enrichissement à 44°C au lieu de 45°C dans la version précédente.

Figure: Projet de norme 2004 : ISO/DTS 22964 – FIL/DRM 210



ROLE, FONCTIONNEMENT ET PRINCIPAUX TRAVAUX DU COMITE CODEX SUR LES METHODES D'ANALYSE ET D'ECHANTILLONNAGE

Résumé de l'intervention de Mme Laurence LEONETTI (ALF) lors de l'assemblée générale 2005

Codex est un terme pouvant désigner, soit la "Commission du Codex Alimentarius" chargée d'élaborer et d'adopter les documents du Codex, soit le "Codex Alimentarius" ou code alimentaire constitué de 13 volumes.

La Commission du Codex Alimentarius, créée en 1961, est une instance inter-gouvernementale regroupant 182 pays représentant les 5 continents. Elle est placée sous l'égide de la FAO et de l'OMS, et la FIL en est membre en tant que conseiller technique pour le comité du lait et des produits laitiers et en tant qu'observateur dans les autres comités. Structuré en comités horizontaux, en comités verticaux par type de produits (ex : les huiles et graisses, les produits de la pêche ou encore le lait et les produits laitiers), en comités régionaux par zone géographique, et en groupes de travail intergouvernementaux, le Codex a pour rôle de servir à l'élaboration de définitions, de principes généraux, de normes générales, de normes de produits, de recommandations, de codes d'usage ou de bonnes pratiques, et de lignes directrices, applicables à toutes les denrées alimentaires, dans le but de faciliter le commerce mondial, de protéger le consommateur et d'harmoniser les législations nationales. Ces documents, applicables aux instances du Codex, aux gouvernements et aux professionnels de l'agroalimentaire pendant 10 à 30 ans, ont un processus d'élaboration de longue durée (5 à 8 ans) dans le cadre de groupes de travail et font périodiquement l'objet de révision.

COMITE CODEX SUR LES METHODES D'ANALYSE ET D'ECHANTILLONNAGE (CCMAS)

Dans le domaine de l'analyse laitière, le comité horizontal sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage a pour rôle d'approuver et d'adopter les méthodes d'analyse de référence proposées par le comité vertical lait et produits laitiers.

Ce comité, présidé et vice-présidé par la Hongrie, intervient pour examiner, définir et adopter les méthodes proposées par les comités sectoriels et les documents relatifs à des travaux d'ordre général

s'appliquant à toutes les denrées alimentaires. Des représentants de la DGCCRF (Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes), la DGAL (Direction Générale de l'Alimentation), du SGCI (Secrétariat Général du Comité Interministériel) et du monde professionnel participent à ce comité qui se réunit annuellement à Budapest.

Les méthodes à approuver sont classées selon 4 types (cf tableau ci-dessous) et sont étudiées de préférence: les méthodes officielles d'analyse élaborées par des organisations internationales, les méthodes applicables en routine et les méthodes horizontales.

Classification des méthodes :

	Définition
Type I	Méthode qui définit une valeur qu'il n'est pas possible d'obtenir qu'aux termes de la méthode per se et qui est par définition la seule utilisée pour établir la valeur acceptée de l'élément mesuré (ex : acidité totale, exprimée en acide lactique, dans les laits fermentés)
Type II	Méthode de référence, lorsque les méthodes de type I ne sont pas applicables. Choisie parmi les méthodes de type III. Son emploi est recommandé dans le cas de litiges et aux fins d'étalonnage (ex : teneur en matière grasse dans les fromages par gravimétrie)
Type III	Méthode alternative. Répond à l'ensemble des critères définis par le CCMAS aux fins de contrôle, d'inspection ou de réglementation (ex : teneur en vitamine A dans les mélanges de matières grasses par HPLC)
Type IV	Méthode provisoire. Méthode traditionnelle ou d'application récente, mais pour laquelle les critères exigés par le CCMAS n'ont pas encore été déterminés par ex : pas d'étude inter-laboratoire (ex : dénombrement des micro-organismes présents dans le levain dans les laits fermentés)

Les documents adoptés et les travaux en cours, dans le cadre de ce comité, sont présentés ci-dessous.

DOCUMENTS ADOPTES PAR LE CCMAS

- **La démarche "critères"** : s'inspire de la décision de la Commission européenne 2002/657 relative aux performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats. Elle a pour principe la possibilité de faire correspondre à chaque spécification d'une norme Codex des critères de performance que devra respecter la méthode.
- **La validation par un seul laboratoire** : son principe repose sur la possibilité qu'une méthode, lorsque des méthodes validées interlaboratoires ne sont pas disponibles, soit, dans certains cas spécifiques, validée par un seul laboratoire.
- **Des lignes directrices pour l'échantillonnage des denrées alimentaires** : ce document propose différents plans d'échantillonnages en fonction du type de denrée et de la gravité du danger. Il pourra être utilisé par chaque comité produit pour sélectionner les plans d'échantillonnage qu'il juge adaptés à son secteur.
- **Des directives sur l'incertitude de mesure** : ce document, qui s'applique à l'analyse quantitative, donne une définition internationale et l'expression des résultats de l'incertitude de mesure. Celle-ci peut être estimée par différentes procédures, en particulier celles décrites par l'ISO (guide pour l'expression de l'incertitude de mesure) et EURACHEM (guide EURACHEM / CITAC).

TRAVAUX EN COURS ET RESULTATS DE LA 26^{ème} SESSION DU COMITE (04-08 avril 2005)

Du fait du long processus d'élaboration des documents, différents travaux (à différents stades) dont voici le descriptif sont en cours :

Utilisation des résultats analytiques :

Un document relatif à l'utilisation des résultats analytiques a été adopté et sera intégré au "Manuel de procédures du Codex" après adoption par le comité principes généraux et la commission du Codex. Du fait de l'absence de documents de ce type par ailleurs, ce document permettra d'interpréter les résultats analytiques tant au niveau du Codex qu'au niveau des systèmes très divers selon les pays. Il recommande aux Comités produits d'intégrer, pour chaque spécification mentionnée dans une norme Codex, les

informations relatives aux plans d'échantillonnage, à l'incertitude de mesure, au pourcentage de récupération et aux chiffres significatifs.

Règlement des litiges :

La rédaction d'une directive pour le règlement des litiges liés à la méthodologie analytiques ou à la performance des laboratoires a été confiée à la France. Elle a pour objectif d'établir une procédure de règlement des litiges en cas de désaccord sur un résultat analytique entre un laboratoire d'un pays importateur et un laboratoire d'un pays exportateur. Elle recommande le règlement du litige sans nouvelle analyse ou nouvel échantillonnage selon une procédure en trois étapes.

Terminologie analytique :

Un troisième travail sur la terminologie analytique est en cours. L'objectif est de réviser les définitions aux fins du Codex afin d'assurer une cohérence avec la terminologie analytique employée par d'autres instances internationales (organismes de normalisation tel que l'ISO). La délégation française s'appuie sur la terminologie publiée par l'AFNOR. 64 termes sont en cours de révision. Les définitions qui peuvent être harmonisées rapidement seront amendées au plus vite et incluses dans le "Manuel de procédures du Codex". Celles qui sont en cours de révision dans le cadre d'organismes internationaux ne seront intégrées qu'une fois révisées.

Evaluation des méthodes :

Le texte concernant la directive pour l'évaluation des méthodes acceptables aux fins du Codex a progressé à l'étape 6. Il fournit un cadre aux pays et comités Codex pour évaluer l'acceptabilité d'une méthode. Pour qu'elle le soit, il faut que différents critères tels que la justesse, l'applicabilité, les limites de détection et de détermination, la linéarité, la précision, la répétabilité intra-laboratoire, la reproductibilité inter-laboratoire, le pourcentage de récupération, la sélectivité, la sensibilité soient appréciés. Pour cela, une définition de chacun de ces termes et une procédure d'estimation de ces critères sont données.

Du fait de leur importance vis à vis de l'industrie alimentaire et des consommateurs, il est capital que l'interprofession laitière contribue à ces travaux tant au plan national (via le gouvernement) qu'au plan international (via la FIL et FIL France-ALF). Il est nécessaire de s'impliquer dans ces travaux car les orientations prises au niveau international auront un impact au niveau européen et au niveau national.

VALIDATIONS AFNOR

Liste des méthodes alternatives d'analyses validées transmises par AFNOR Certification.

Intitulé	Date	N° d'attestation	Description
NOUVELLES VALIDATIONS			
TEMPO TVC	Date validation : 19.09.2005 Fin de validité : 19.09.2009	BIO-12/15-09/05	Dénombrement de la flore mésophile aérobie revivifiable Tous produits d'alimentation humaine et aliments pour animaux de compagnie (sauf lait cru, boissons et alimentation pour bétail)
VIDAS EASY SALMONELLA	Date validation : 20.09.2005 Fin de validité : 20.09.2009	BIO-12/16-09/05	Détection des salmonelles Tous produits d'alimentation humaine et prélèvements de l'environnement (hors environnement d'élevage)
RECONDUCTION DE VALIDATION			
TEST 3M™ PETRIFILM™ RAPIDE COLIFORMES	Date validation : 18.03.1997 Reconduction les 13.12.2001 et 19.09.2005 Fin de validité : 18.03.2009	3M-01/5-03/97A	Dénombrement rapide des coliformes en 14 heures Tous produits d'alimentation humaine
TEST 3M™ PETRIFILM™ RAPIDE COLIFORMES	Date validation : 18.03.1997 Reconduction les 13.12.2001 et 19.09.2005 Fin de validité : 18.03.2009	3M-01/5-03/97B	Dénombrement rapide des coliformes totaux en 24 heures Tous produits d'alimentation humaine
PROLONGATIONS DE VALIDATIONS			
TEST 3M™ PETRIFILM™ RAPIDE COLIFORMES	Date validation : 18.03.1997 Reconduction le 13.12.2001 Fin de validité : 18.03.2005 Prolongation jusqu'au 31.03.2006	3M-01/5-03/97C	Dénombrement rapide des coliformes gazogènes en 24 heures Tous produits d'alimentation humaine sauf produits de charcuterie
RAPID L'MONO (DENOMBREMENT)	Date validation : 28.09.2001 Fin de validité : 28.09.2005 Prolongation jusqu'au 15.12.2005	BRD-07/5-09/01	Dénombrement des <i>Listeria monocytogenes</i> 1- produits laitiers ; 2- produits carnés ; 3- produits de la pêche

Les textes des attestations de validation, ainsi que la liste récapitulative, sont disponibles auprès de :

AFNOR Certification - 11 av. Francis de Pressensé - 93571 La Plaine St Denis cedex -

Tél. : 01.41.62.80.91 ou 01.41.62.85.29 – Fax : 01.49.17.90.40 ou 01.49.17.90.19.

Email : claire.drean@afnor.fr ou valentine.digonnet@afnor.fr

NOUVEAUTES DANS LA REGLEMENTATION : FRANCE

Dans les tableaux suivants, le classement est établi par ordre alphabétique du premier mot-clé

A.O.C. / BLEU
J.O. n° 277 du 29 novembre 2005 – Arrêté du 15 novembre 2005 portant homologation du règlement technique d'application de l'appellation d'origine contrôlée "Bleu de Gex Haut-Jura" ou " Bleu de Septmoncel" http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRP0502550A
PESTICIDES / RESIDUS / LAIT / PRODUITS LAITIERS
J.O. n° 237 du 11 octobre 2005 – Arrêté du 14 septembre 2005 modifiant l'arrêté du 5 décembre 1994 modifié relatif au retrait de la consommation humaine des denrées alimentaires d'origine animale contaminées par des résidus de pesticides http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRG0502131A
J.O. n° 279 du 1^{er} décembre 2005 – Arrêté du 27 octobre 2005 modifiant l'arrêté du 5 décembre 1994 modifié relatif au retrait de la consommation humaine des denrées alimentaires d'origine animale contaminées par des résidus de pesticides http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRG0502411A
PESTICIDES / TENEUR MAXIMALE / CHLORDEZONE
J.O. n° 238 du 12 octobre 2005 – Arrêté du 5 octobre 2005 relatif à la teneur maximale en chlordécone que ne doivent pas dépasser certaines denrées d'origine animale pour être reconnues propres à la consommation humaine http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRG0502222A

NOUVEAUTES DANS LA REGLEMENTATION : UNION EUROPEENNE

Le classement est établi par ordre alphabétique du premier mot-clé

APPELLATIONS D'ORIGINE / DENREE ALIMENTAIRE
J.O.U.E. C 317 du 13 décembre 2005 – Structures de contrôle communiquées par les Etats membres conformément à l'article 10, paragraphe 2, du règlement (CEE) n° 2081/92 relatif à la protection des indications géographiques et des appellations d'origine des produits agricoles et des denrées alimentaires http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/c_317/c_31720051213fr00010110.pdf
PESTICIDES / RESIDUS / TENEURS MAXIMALES
J.O.U.E. L 276 du 21 octobre 2005 – Directive 2005/70/CE de la Commission du 20 octobre 2005 modifiant les directives 76/895/CEE, 86/362/CEE, 86/363/CEE et 90/642/CEE du Conseil en ce qui concerne les teneurs maximales pour les résidus de certains pesticides sur et dans les céréales et certains produits d'origine animale et végétale http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_276/l_27620051021fr00350053.pdf

CONGRES – SALONS – COLLOQUES

Classement par ordre alphabétique

NORMALISATION		
29 mai – 2 juin 2006 Vilnius, Lituanie	Semaine analytique FIL / ISO	http://www.fil-idf.org
SALMONELLA		
10 – 12 mai 2006 Saint-Malo	4 ^{ème} symposium international sur les salmonelles et les salmonelloses	http://www.zoopole.com/ispaia/i3s2006

NORMES, PROJETS DE NORMES

Classement alphabétique par thème (partie grisée)

1.1 - Projets de normes AFNOR

FROMAGE, CROUTE DE FROMAGE ET FROMAGES FONDUS		
FROMAGE / NATAMYCINE	Projet V 04-280-1 Projet V 04-280-2 (PR NF ISO 9233-1 PR NF ISO 9233-2) Janvier 2006	FROMAGE, CROUTE DE FROMAGE ET FROMAGES FONDUS Détermination de la teneur en natamycine Partie 1 : méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire pour croûte de fromage Partie 2 : méthode par chromatographie liquide à haute performance pour fromage, croûte de fromage et fromages fondus
LAIT ET PRODUITS LAITIERS		
LAIT / PRODUITS LAITIERS CUIVRE	Projet V 04-153 (PR NF ISO 5738) Décembre 2005	LAIT ET PRODUITS LAITIERS Détermination de la teneur en cuivre – Méthode photométrique (méthode de référence)

2.1 - AFNOR normes parues

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS		
<i>E. COLI</i> / METHODE HORIZONTALE	V 08-031-3 (XP ISO/TS 16649-3) Septembre 2005	MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Méthode horizontale pour le dénombrement des <i>Escherichia coli</i> β -glucuronidase-positives Partie 3 : technique du nombre de plus probable utilisant bromo-5-chloro-4-indolyl-3 β -D-glucuronate

2.2 - ISO normes parues

LAIT		
LAIT / PSYCHOTROPHES	ISO 6730:2005 (FIL 101) Septembre 2005	LAIT Dénombrement des unités formant colonie de micro-organismes psychrotrophes – Technique par comptage des colonies à 6,5°C
LAIT SEC		
LAIT SEC / ACIDE LACTIQUE / LACTATES	ISO 8069:2005 Septembre 2005	LAIT SEC Détermination de la teneur en acide lactique et en lactates
LAIT SEC ET PRODUITS LAITIERS EN POUDRE		
LAIT SEC / PRODUITS LAITIERS EN POUDRE INDICE D'INSOLUBILITE	ISO 8156:2005 Octobre 2005	LAIT SEC ET PRODUITS LAITIERS EN POUDRE Détermination de l'indice d'insolubilité

PRODUITS LAITIERS ET PRODUITS A BASE DE LAIT		
PRODUITS LAITIERS/ PRODUITS A BASE DE LAIT MATIERE GRASSE	ISO 8262-1:2005 ISO 8262-2:2005 ISO 8262-3:2005 (FIL 124-1, 124-2 et 124-3) Septembre et novembre 2005	PRODUITS LAITIERS ET PRODUITS A BASE DE LAIT Détermination de la teneur en matière grasse par la méthode Weibull-Berntrop (méthode de référence) Partie 1 : aliments pour enfants en bas âge Partie 2 : glaces de consommation et préparations pour les glaces à base de lait Partie 3 : cas particuliers
STATISTIQUES / ESSAI D'APTITUDE		
STATISTIQUES / ESSAI D'APTITUDE	ISO 13528:2005 Septembre 2005	Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaisons interlaboratoires

REVUE DE PRESSE – REVUE DU NET

Classement alphabétique des mots-clés

ENTEROBACTERIACEAE

La traque contre l'*Enterobacter sakazakii* est ouverte, RLF, novembre 2005, n° 656, p. 32-34

► Cet article présente les nouvelles dispositions de surveillance des *Enterobacteriaceae* fixées par la réglementation européenne ainsi que le projet de méthode pour la recherche des *Enterobacter sakazakii*.

HYGIENE / LAIT NOURRISSON

Rapport sur les "recommandations d'hygiène pour la préparation et la conservation des biberons" (17 octobre 2005)

<http://www.afssa.fr>

► Ce rapport expose les recommandations d'hygiène pour la préparation et la conservation des biberons à appliquer dans les crèches et établissements hospitaliers, dans d'autres structures d'accueil de la petite enfance et au domicile.

LAIT E.S.L. / REGLEMENTATION / PROCEDE

Quel avenir pour le lait E.S.L., RLF, décembre 2005, n° 657, p. 46-47

► Cet article fait le point sur l'évolution de la réglementation et les divers procédés de fabrication des laits E.S.L. : laits à durée de vie allongée sur les étagères de la distribution.

PHOSPHOLIPASE / FROMAGE

Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une phospholipase d'une souche d'*Aspergillus oryzae* porteuse du gène de *Fusarium venenatum* codant une phospholipase dans les fromages à l'exception de ceux bénéficiant d'une appellation d'origine

<http://www.afssa.fr/Ftp/Afssa/33046-33047.pdf>

► Cet avis fait le point sur les éléments auxquels devait répondre cette demande d'autorisation et présente les raisons de l'avis défavorable de l'AFSSA.

PLAN DE SURVEILLANCE / PLAN DE CONTROLE DE LA CONTAMINATION

Note de service de la DGAL : DGAL/SDRRCC/N2005-8286 du 14 décembre 2005

<http://www.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/dgaln20058286z.pdf>

► Note de service présentant les dispositions générales relatives aux plans de surveillance et aux plans de contrôle de la contamination des denrées animales et des produits destinés à l'alimentation animale pour l'année 2006.

LIBRAIRIE : NOUVELLES PARUTIONS

Le classement par ordre alphabétique du premier mot-clé vous permet de consulter les références en fonction de vos centres d'intérêts. L'adresse postale ou internet vous permet soit d'en savoir plus, soit de commander un ouvrage ou de le télécharger.

ESSAIS INTERLABORATOIRES / QUALITE

AFNOR – **Les essais interlaboratoires** – Edition Afnor – ISBN 2-12-210611-5 – 497 p.

Ce recueil regroupe les principales références normatives relatives à l'évaluation des méthodes de mesure et d'essais, à l'évaluation de l'aptitude des laboratoires, et à l'évaluation des matériaux de référence.

<http://www.boutique.afnor.fr>

PATHOGENES

GRIFFITHS M. – **Understanding pathogen behaviour – Virulence, stress response and resistance** – Edition CRC Press – ISBN 0849334268 – 611 p.

Cet ouvrage présente dans une première partie les méthodes d'analyse des pathogènes puis, examine dans une seconde partie leur virulence, leur réaction au stress et leur résistance.

<http://www.crcpress.com>

La Lettre de CECALAIT est éditée par CECALAIT, B.P. 70129, 39802 POLIGNY CEDEX
CECALAIT : association. Président : Marcel DENIEUL ; Vice-Président : Emmanuel MALLO;
Trésorier : Jacques DELACROIX; Secrétaire : Pascaline GARNOT ; Directeur : Hugues DAMOUR
Directeur de la publication : Marcel DENIEUL

Créatrice : Annette BAPTISTE

Maquette : A. BAPTISTE, I. BECAR

Responsable de la rédaction : Carine TROUTET - E-mail : c.troutet@cecalait.fr

Ont collaborés à ce numéro : P. ROLLIER

Relecture : , N. GNANOU-BESSE, L. LEONETTI, H. DAMOUR, P. ROLLIER, Ph. TROSSAT –

E-mail : ph.trossat@cecalait.fr

Rédaction achevée le 15 décembre 2005

Impression : CECALAIT, B.P. 70129, 39802 POLIGNY CEDEX - Tél. : 03.84.73.63.20 - Télécopie : 03.84.73.63.29

4^{ème} trimestre 2005

Dépôt légal : à parution

ISSN 1298-6976