

CENTRE D'ETUDES ET DE CONTROLE
DES ANALYSES EN INDUSTRIE LAITIERE

avril 1998

N°25

LA LETTRE DE CECALAIT

CECALAIT INRA SRTAL BP 89 39801 Poligny TEL : 03.84.73.63.20 TELECOPIE : 03.84.37.37.81
E-mail : bap~~t~~@poligny.inra.fr ou trossat@poligny.inra.fr

Rédaction achevée le 11 mai 1998

Equipe rédactionnelle : A. BAPTISTE; O. LERAY; Ph. TROSSAT

Relecture par : R. GRAPPIN et les auteurs

SOMMAIRE

Dispositions qualité pour la production d'échantillons à teneur garantie

Evaluation : SOMACOUNT 150

Nouveautés dans la réglementation

Rendez-vous

Points critiques et tendance des méthodes Kjeldahl et Noir Amido

Normes et projets de normes parus récemment

Validations AFNOR

Du côté de la biblio...

DISPOSITIONS QUALITE POUR LA PRODUCTION D'ECHANTILLONS A TENEUR GARANTIE

Dans La Lettre de CECALAIT n° 19 de juillet 1996, nous avons fait le point sur l'ensemble des dispositions qualité nécessaires pour la production de matériaux de référence secondaire (ou échantillon à teneur garantie : ETG). Une des phases clés est la détermination des valeurs de référence. Le tableau ci-dessous détaille, pour chaque type d'ETG, quelles sont les dispositions qualité prises à cet égard.

	DETERMINATION DES VALEURS		DISPOSITIONS QUALITE INTERNES CECALAIT				Analyse ETG mois précédent
	Méthode	Nombre de laboratoire participants	Participation Chaines CECALAIT	Participations chaines externes	Analyse de matériaux de référence	Comparaison à :	
NOIR AMIDO	FIL 98A:1985	1	OUI	OUI (CNIEL)	OUI (poudre congelée)	méthode Kjeldahl	OUI
CELLULES SOMATIQUES	FIL 148A:1995	1 (optique) 4 (instrumental)	OUI (optique et instrumental)	OUI (KIEL)	NON	-	NON (OUI à terme)
LIPOLYSE	Doc FIL 265	1	OUI	NON	OUI (MG référence)	-	NON
M.I.R.	NF V 04-210 déc. 1990 FIL 98A:1985 FIL 79B:1991	1	OUI	OUI (méthodes chimiques)	OUI (ETG CECALAIT)	méthode Gerber méthode Noir Amido mét. enzym. lactose	OUI
Matière grasse GERBER	NF V 04-210 déc. 1990	3	OUI	OUI (CNIEL)	NON	NON (OUI, à terme)	OUI
Matière grasse EXTRACTION	FIL 1 D:1996	4	OUI	OUI (MUVA)	NON	-	OUI
AZOTE	FIL 20 B:1993	4	OUI	OUI (MUVA)	OUI (Solutions)	-	OUI
CRYOSCOPIE	FIL 108B:1991	4	OUI	OUI (CNIEL)	OUI (solution 512 m°C)	-	OUI
MATIERE SECHE	FIL 21 B:1987	4	OUI	NON	NON	-	OUI

par Ph. Trossat., synthèse de l'intervention à la Réunion annuelle des Présidents et Directeurs des LIAL, Aurillac, 25-26 septembre 1997

EVALUATION : LE SOMACOUNT 150

Le Somacount 150 de la société Bentley est un appareil automatique de numération des cellules somatiques du lait. Il utilise une méthode optofluoroélectronique et la cytométrie de flux. Ses caractéristiques analytiques et instrumentales ont été évaluées par CECALAIT. Le traçage et la linéarité de l'appareil apparaissent conformes aux exigences réglementaires. Quant à ses performances de précision : répétabilité et justesse, elles le rendent aptes à une utilisation en laboratoire interprofessionnel ou de contrôle laitier.

Le Somacount 150 est un appareil automatique de dénombrement des cellules somatiques dans le lait fabriqué par la société BENTLEY (USA). Il fonctionne selon la méthode optofluoroélectronique et en cytométrie de flux. Le laboratoire de physico-chimie de CECALAIT a évalué cet appareil de décembre 1995 à février 1996 (essai 1), puis à nouveau en décembre 1996 (essai 2).

PRINCIPE ET DESCRIPTION

L'appareil est asservi à un micro-ordinateur qui assure le pilotage complet de l'instrument et le traitement du signal.

L'échantillon prélevé automatiquement est dilué dans un mélange réactif colorant, solution tamponnée de triton X 100 et de bromure d'éthidium, de manière à en disperser les globules gras et à colorer les noyaux des cellules somatiques. Une partie aliquote de la suspension cellulaire colorée est injectée dans un fluide vecteur en écoulement laminaire dans un capillaire. Les cellules séparées par le flux sont exposées au faisceau d'un laser He - Ne. Les impulsions lumineuses émises par fluorescence par le colorant fixé par les cellules sont amplifiées au niveau d'un photomultiplicateur, comptabilisées au-delà d'un certain seuil, puis traduites en termes de concentration cellulaire. Le logiciel de l'instrument permet de choisir, soit un seuil de comptage fixe, soit un seuil variable propre à chaque échantillon.

LES ESSAIS

Les essais ont été effectués, avec seuil de comptage variable, sur l'appareil en configuration standard, mais équipé d'un passeur d'échantillons, d'où un volume de purge amené à 3,5 ml au lieu de 3 ml en l'absence de passeur. Ils ont porté sur les points suivants :

- ♦ Evaluation de la contamination entre échantillons, (lors de l'essai 1, uniquement)
- ♦ Evaluation de la linéarité, (lors de l'essai 1, uniquement)
- ♦ Evaluation de la répétabilité,
- ♦ Evaluation de la justesse.

Les critères d'appréciation de ces différents paramètres se basent sur la norme FIL 148A: 1995.

❶ CONTAMINATION ENTRE ECHANTILLONS

Elle a été évaluée en mode automatique (avec utilisation du passeur) par l'analyse d'un même lait individuel et d'eau selon la

séquence: LAIT - LAIT - EAU - EAU, répétée 10 fois. Ce test a été effectué sur 4 laits de niveaux cellulaires différents, avec un coefficient de traçage fixé à 0.

Le taux de contamination (Tc %) a été estimé par la formule:

$$Tc = [S(EAU 1) - S(EAU 2) / S(LAIT 2) - S(EAU 2)] \times 100$$

Dans ces conditions, le système laisse apparaître des contaminations variables en fonction du niveau de la concentration cellulaire de 0 à 0,71 %. Les valeurs obtenues restent dans la limite de 1 % autorisée pour les méthodes rapides de détermination de la richesse du lait.

❷ LINEARITE

Elle a été évaluée au moyen d'une gamme de 10 laits aux taux régulièrement répartis entre 0 et 2000×10^3 cellules / ml environ, analysée en mode manuel (sans utilisation du passeur), dans l'ordre croissant des teneurs (à raison de 3 répétitions successives par échantillon).

Une telle gamme a été réalisée au moyen de dilutions Poids / Volume à partir d'un concentré cellulaire à 2000×10^3 cellules / ml environ et d'un filtrat exempt de cellules, obtenus par microfiltration.

Les résultats ont montré une linéarité satisfaisante sur la gamme de 0 à 2000×10^3 cellules somatiques / ml.

❸ REPETABILITE

La répétabilité a été évaluée en mode automatique par l'analyse de :

- ♦ 133 laits individuels de vache provenant de 8 élevages, conservés avec du Bronopol (0.02 % final), pour l'essai 1
- ♦ 119 laits individuels provenant de 7 élevages, conservés dans les mêmes conditions, pour l'essai 2.

. Chaque élevage a été analysé, en double, selon la séquence suivante (en accord avec la norme FIL 128):

Elevage 1 rép 1 - Elevage 1 rep 2 - Elevage 2 rép 1
.....Elevage n rep 1 - Elevage n rep 2.

Entre deux répétitions, les échantillons ont été remis au bain marie pour réchauffer jusqu'à la température souhaitée.

Les résultats sont consignés dans le tableau 1.

tableau 1 : répétabilité du Somacount 150

➤ **procédure**

Pour ce faire, on a employé :

♦ au cours de l'essai 1, 100 laits individuels de vache, qui avaient été sélectionnés parmi 133 prélevés dans 8 élevages du Jura, puis ont été analysés en double sur le Somacount 150, préalablement calibré entre 0 et 800 000 à l'aide de 5 échantillons commerciaux produits par CECALAIT.

♦ au cours de l'essai 2, 80 laits individuels de vache, qui avaient été sélectionnés parmi 119 prélevés dans 7 élevages du Jura puis ont été analysés en double sur le Somacount 150, préalablement calibré entre 0 et 1800 000 à l'aide de 9 échantillons commerciaux produits par CECALAIT.

Ils ont ensuite été analysés en simple par la méthode de référence au microscope (FIL 148A). En cas de résidu trop important après régression, un deuxième comptage a été effectué.

➤ **résultats**

Les droites de régression linéaire obtenues entre 0 et 2000 x 10³ cellules / ml montrent un bon ajustement de l'étalonnage pour les deux essais et une bonne concordance entre les valeurs de référence et les résultats obtenus avec l'appareil calibré. Leurs équations respectives sont :

essai 1

pour n = 97: $REF = 0.946 \times X + 15.3$
 $Sy,x = 28100$ et biais moyen = + 800

pour n = 92: $REF = 0.958 \times X + 13.8$
 $Sy,x = 20900$ et biais moyen = - 1900

essai 2

pour n = 77: $REF = 0.982 \times X + 4.7$
 $Sy,x = 25580$ et biais moyen = + 2000

pour n = 72: $REF = 0.982 \times X + 3.9$
 $Sy,x = 19370$ et biais moyen = +2200

On remarquera cependant que l'essai 2 présente un ajustement légèrement meilleur que l'essai 1 (notamment au niveau de la pente de régression et de l'ordonnée à l'origine). Il faut relier cette amélioration aux modalités de calibrage de l'appareil plus complètes lors du second essai

Les tableaux 2 et 3 donnent les paramètres de justesse du Somacount 150, calculés par tranche de taux cellulaires

ESSAI 1					
Etendue x 1000	n	Moyenne	Sr	Sr %	r
0 - 100	65	40	2.5	6.23	7.0
100 - 300	31	180	4.0	2.22	11.1
300 - 800	26	515	10.5	2.03	29.1
800 - 1500	6	1064	10.9	1.03	30.2
1500 - 3000	5	2216	19.6	0.89	54.3
0 - 3000	133	293	6.9	2.36	19.2
ESSAI 2					
0 - 100	57	50	3.0	5.89	8.3
100 - 300	30	167	5.4	3.21	14.9
300 - 800	20	533	8.1	1.53	22.5
800 - 1500	9	956	11.9	1.25	33.1
1500 - 3000	5	2116	28.4	1.35	78.7
0 - 3000	119	315	8.2	2.61	22.7

avec n : nombre d'échantillons

Sr : écart-type de répétabilité

Sr% : écart-type de répétabilité relatif en %

r : estimation de la répétabilité

Ce tableau permet de conclure que le Somacount 150 présente une répétabilité conforme aux indications de la norme FIL 148A, à savoir un écart type de répétabilité relatif moyen inférieur à 5 %, ce qui, dans le détail veut dire :

- ♦ compris entre 5 et 10 % pour les teneurs inférieures à 100 000 cellules / ml
- ♦ inférieur (ou égal) à 5 % au delà.

⊕ **JUSTESSE**

La justesse a été estimée au moyen de l'écart type résiduel de régression et des écarts types des écarts, en prenant :

- ♦ la méthode de référence en variable expliquée Y,
- ♦ le Somacount 150 en variable explicative X, obtenue par régression linéaire simple (moyenne des résultats comptages visuels; moyenne des résultats appareil).

Quant à la précision, elle a été mesurée par le biais moyen (\bar{d}) et l'écart type des écarts (Sd). L'écart type résiduel (Sy,x) montre le degré d'ajustement possible pour l'optimisation de la pente.

Tableau 2 : Justesse du Somacount 150 - Essais 1 et 2

ESSAI 1					
Etendue (x 1000)	n	Moyenne	\bar{d}	Sd	+/- l
0 à 500	76 (74)	154 (155)	- 5.1 (- 5.7)	26.1 (21.2)	+/- 52.2 (+/- 42.2)
500 à 1000	16 (14)	654 (640)	+ 5.1 (+ 1.3)	29.6 (20.3)	+/- 59.2 (+/- 40.6)
1000 à 2000	5 (4)	1395 (1445)	+ 78.1 (+ 57.4)	60.2 (42.5)	+/- 120.4 (+/- 85.0)
0 à 2000	97 (92)	300 (285)	+ 1.0 (- 1.9)	34.2 (25.4)	+/- 68.4 (+/- 50.8)
ESSAI 2					
0 à 500	56 (55)	174 (171)	- 2.1 (- 1.0)	20.8 (19.3)	+/- 41.6 (+/- 38.6)
500 à 1000	17 (14)	728 (711)	+ 13.6 (+ 8.6)	34.9 (20.3)	+/- 69.8 (+/- 40.6)
1000 à 2000	4 (3)	1476 (1597)	+ 9.4 (+ 30.7)	44.7 (16.6)	+/- 89.4 (+/- 33.2)
0 à 2000	77 (72)	364 (335)	+ 2.0 (+ 2.2)	26.3 (20.4)	+/- 52.6 (+/- 40.8)

avec

n : Nombre d'échantillons

\bar{d} : Moyenne des écarts (appareil - référence)

Sd : Ecart type des écarts (appareil - référence)

+/- l : Intervalle de confiance pour 95 % des résultats

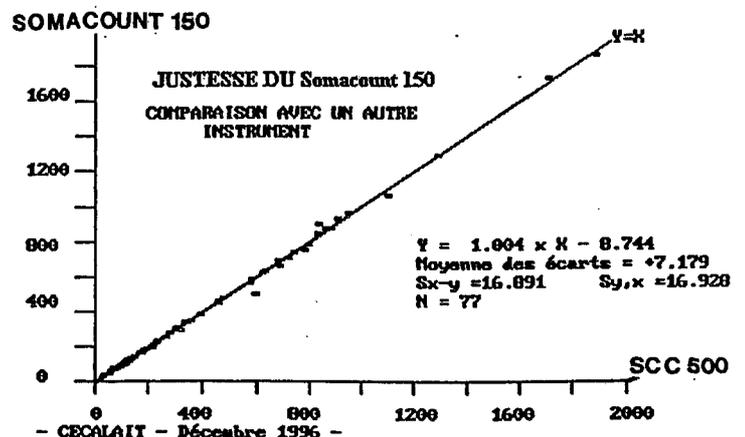
Tableau 3 : Justesse du Somacount 150 pour les comptages inférieurs à 1 000 000 - Essais 1 et 2

ESSAI 1					
Etendue	n	Moyenne	\bar{d}	Sd	+/- l
0 à 100	34	58	- 9.9	19.1	+/- 38.2
0 à 200	56 (54)	93 (92)	- 7.8 (- 8.6)	26.9 (20.0)	+/- 53.8 (+/- 40.0)
100 à 300	32 (30)	173 (178)	- 2.9 (- 4.1)	31.2 (20.4)	+/- 62.4 (+/- 40.8)
200 à 400	17	301	+ 3.2	19.0	+/- 38.0
300 à 600	15	428	+ 2.9	24.9	+/- 49.8
400 à 600	8	491	- 1.2	27.8	+/- 55.9
600 à 1000	12 (10)	693 (680)	+ 8.6 (+ 4.1)	32.7 (22.1)	+/- 65.4 (+/- 44.2)
ESSAI 2					
0 à 100	16	73	+ 5.3	14.6	+/- 29.2
0 à 200	38	108	+ 0.2	15.4	+/- 30.8
100 à 300	31	166	- 3.5	18.8	+/- 37.6
200 à 400	15 (14)	287 (281)	- 10.4 (- 6.6)	29.1 (26.1)	+/- 58.2 (+/- 52.2)
300 à 600	13 (12)	435 (441)	- 2.7 (+ 2.3)	32.5 (28.1)	+/- 65.0 (+/- 56.2)
400 à 600	7	508	+ 12.4	25.9	+/- 51.8
600 à 1000	13 (10)	782 (711)	+ 13.4 (+ 8.6)	37.6 (20.3)	+/- 75.2 (+/- 40.6)

Pour l'ensemble des essais, les biais moyens par tranche de taux cellulaire restent faibles, dans les limites autorisées par les incertitudes cumulées des étalonnages et des comptages visuels (cf tableaux 2 et 3). Ils apparaissent notamment compatibles à la fois avec les besoins du paiement du lait et ceux du contrôle laitier.

En outre, lors de l'essai 1, les échantillons ont été analysés dans les mêmes conditions sur le Somacount 150 et sur des Fossomatic 400 et 5000 (Foss) ; sur le Somacount 150 et un SCC 500 (PERSTORP / ANADIS - FOSS), lors de l'essai 2. La comparaison des résultats obtenus sur ces différents appareils montre une étroite concordance sur la plage de calibrage. La figure 1 en donne un exemple, pour la comparaison des appareils Somacount 150 et SCC 500

Figure 1 : justesse du Somacount 150 : comparaison avec le SCC 500



CONCLUSION

Le Somacount 150 donne satisfaction sur l'ensemble des points testés : linéarité, traçage, répétabilité et justesse. Il présente des performances de justesse (ajustement moyen et précision d'estimation) conformes aux besoins du paiement du lait et du contrôle laitier et tout à fait comparables aux autres instruments utilisés dans les laboratoires.

Références :

- norme FIL 128:1985 Lait : définition et évaluation de la précision globale des méthodes indirectes d'analyse du lait - application au calibrage et au contrôle de qualité
- norme FIL 148A:1995. Lait : numération des cellules somatiques du lait.

(Par Ph. TROSSAT et O. LERAY)

NOUVEAUTES DANS LA REGLEMENTATION

FRANCE

Arrêté du 2/10/1997 (JO du 8/11/1997) relatif aux additifs employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine

Ce texte volumineux reprend, en droit français, les directives européennes consacrées aux édulcorants, colorants et autres additifs. Il en donne la liste et fixe pour chacun d'eux la dose maximale, les conditions d'emploi et les critères de pureté à satisfaire.

Décret du 14 octobre 1997 relatif aux matières grasses tartinables.

Ce texte abroge plusieurs articles des décrets n°88-1204 et 88-1205 du 30 décembre 1998. Il ajoute un alinéa concernant le « beurre pasteurisé A » dont la dénomination est réservée à certains beurres définis dans ce même article alinéas b et c.

Arrêté du 16 décembre 1997 portant homologation de l'avenant au cahier des charges concernant le mode de production biologique du lait et des produits laitiers de l'espèce bovine (y compris glaces, crèmes glacées et margarines).

L'avenant n° 2 est homologué au cahier des charges du mode de production biologique du lait et des produits laitiers de l'espèce bovine. Cet avenant est consultable aux sièges des organismes certificateurs ou au ministère de l'agriculture et de la pêche.

Décret n° 97-1319 du 30 décembre 1997 relatif aux modalités de paiement du lait de vache en fonction de sa composition et de sa qualité.

Ce texte détermine des conditions au paiement du lait en fonction de sa composition et de sa qualité hygiénique et sanitaire, appréciée conformément à la directive 92/46/CE.

Il définit les modalités techniques de prélèvement, de notification des résultats des analyses et de classement en fonction de ceux-ci.

Avis du 08 février 1998 relatif à la mise sur le marché communautaire de laits de consommation et de produits à base de lait

Ce texte présente la liste des établissements conformes aux dispositions de l'arrêté du 02 mars 1995 relatif à l'agrément des centres de collecte, de standardisation, de traitement, de transformation du lait et des produits à base de lait.

Ce texte a été depuis modifié par une liste complémentaire publiée dans l'avis du 26 mars 1998, de même titre.

EUROPE COMMUNAUTAIRE

Règlements n° 1836/97 du 24-09-1997, 1837/97 du 24-09-1997, 1838/97 du 24-09-1997, 1850/97 du 25-09-1997, 426/98 du 23-2-1998 et 613/98 du 18-3-1998 de la Commission modifiant les annexes I, II, et III et IV du règlement n° 2377/90 du Conseil établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale. (JO. CE L263 du 25-09-1997, L264 du 26-09-1997, L 53 du 24-2-1998, L82 du 19/3/1998)

Ces textes complètent la liste des différents agents antiparasitaires avec les LMRs exprimées en µg/Kg de lait : Doramectine (100 µg), Fébantel (10 µg), Fenbendazole (10 µg), Oxfendazole (10 µg), Dexaméthasone (0,3 µg), Nétobimine (100µg) et Albendazole sulphonyde (100µg).

De même avec les agents anti-infectieux et leurs LMRs exprimées en µg/kg de lait comme le Celtiofur, le Baquiloprim, la Tylosine, la Nafciline, avec des taux respectifs de 100 µg, 30µg, 50 µg, 30 µg.

Ils font aussi le point sur la liste des anti-inflammatoires avec quelques agents tels que : l'Acide tolfénamique (LMR 50 µg), le Bismuth sous carbonate, sous gallate, sous nitrate ou sous salicylate.

Enfin, ils rajoutent quelques composés inorganiques comme le nitrate, le DL-Aspartate, le glucuronate et le glycérophosphate de potassium à la liste des substances qui ne sont pas soumises à une limite maximale de résidus.

Règlements n° 1997/97 du 14-10-1997 et 745/98 du 2/4/1998 de la Commission modifiant le règlement n° 1854/96 établissant une liste des méthodes de références à appliquer à l'analyse et à l'évaluation de la qualité du lait et des produits laitiers conformément à l'organisation commune des marchés. (JO. CE L282 du 15-10-1997 et L 103 du 3/4/1998)

Ces textes complètent le règlement n°2721/95 de la Commission du 24/11/1995. Toute analyse physico-chimique ou microbiologique sur le lait ou sur un produit laitier, effectuée dans le cadre du marché communautaire doit utiliser une méthode figurant sur la liste donnée en annexe de ces textes. La version actuellement valide de cette liste est donc celle fournie par le règlement 745/98.

Règlements n° 2181/97 du 3-11-1997 et 623/98 du 19/3/1998 de la Commission modifiant le règlement n° 577/97 portant certaines modalités d'application du règlement (CE) n° 2991/94 du Conseil établissant des normes pour les matières grasses tartinables et du règlement n° 1898/97 du Conseil concernant la protection de la dénomination du lait et des produits laitiers lors de leur commercialisation. (JO L 299 du 4/11/1997 et L85 du 20/3/1998)

Ces textes modifient, respectivement, le règlement 577/97 :

- en rajoutant une annexe consacrée aux modalités de contrôle de la déclaration de la teneur en matières grasses dans les matières grasses tartinables,
- en réécrivant et en développant considérablement l'article consacré à la dénomination "beurre", puis en ajoutant une annexe liée à ce produit.

Décision de la Commission du 23/2/1998 fixant les modalités de prise d'échantillons officiels pour la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits.. (JO. CE L65 du 23-2-1998)

Ce texte précise les compétences des organismes chargés des prélèvements et des analyses des échantillons officiels. Il fixe de plus les critères de ciblage de ceux-ci.

Règlement n° 880/98 du 24/4/1998 de la Commission établissant une liste des méthodes de référence pour la détermination des teneurs du beurre en eau, en matières sèches non grasses et en matières grasses. (JO L 124 du 25/4/1998)

Ce texte détaille les trois méthodes de référence à utiliser pour ces déterminations. Il s'inspire en gros de la norme FIL 80:1977 car le principe de ces méthodes est également basé sur l'évaporation de l'eau de la portion à analyser puis l'extraction des matières grasses. Mais certains détails opératoires et les valeurs de fidélité diffèrent notablement.

➤ calendrier de la directive 92/46...à suivre

Depuis le 1er janvier 1998, en vertu de la directive CE 92/46 du 16 Juin 1992 et du l'arrêté du 18 mars 1994 (*JO France du 19/4/1994*) qui la reprend et en fixe les modalités, le lait cru de vache doit satisfaire aux conditions suivantes :

"lors de la collecte à l'exploitation, pour l'admission du lait cru à l'établissement de traitement ou transformation "

teneur en germes à 30°C < 100 000/ml teneur en cellules somatiques < 400 000/ml
--

Un court article, paru (en page 14) dans la Revue Laitière Française du mois de Mars 1998 précise les modalités pratiques de la mise en place du respect de ces nouveaux seuils.

RENDEZ-VOUS

1-3 JUILLET 1998 : CHEESE SCIENCE '98 A MELBOURNE (AUSTRALIE)

Pour tout renseignement, prendre contact avec :

K. Manser, Gilbert Chandler College
University of Melbourne, Private Bag 16
Werribee VIC 3030 AUSTRALIA
tel : 61/3 9741 8033
fax : 61/3 9741 9396
mel : k.manser@vcah.unimelb.edu.au

16-19 AOUT 1998 : CONGRES ANNUEL DE "THE INTERNATIONAL ASSOCIATION OF MILK, FOOD AND ENVIRONMENTAL SANITARIANS" : ADVANCING FOOD SAFETY A NASHVILLE (ETATS-UNIS)

Pour tout renseignement, prendre contact avec :

IAMFES
6200 Aurora Ave
Savoy, IL 61874 USA
tel : 1/217 356 3182
fax : 1/217 398 4119
mel : jamfes@iamfes.org

15-18 SEPTEMBRE 1998 : EUROPEAN DAIRY EXPERTS SYMPOSIUM A ARNHEM (PAYS-BAS)

Pour tout renseignement, prendre contact avec :

Mrs H.R.M. Kentie / Mrs A.A. Greeven
IAC
PO Box 88, 6700 AB WAGENINGEN
PAYS-BAS
tel : 31/317 490285/490287
fax : 31/317 418552
mel : h.r.m.kentie@iac.agro.nl

21-23 SEPTEMBRE : 25E CONGRES INTERNATIONAL DE LA FIL A AARHUS (DANEMARK)

24-26 SEPTEMBRE : 82E SESSIONS ANNUELLES DE LA FIL A AARHUS (DANEMARK)

Pour tout renseignement sur ces deux derniers événements, prendre contact avec les organismes suivants :

FIL
C. Brooks
41, square Vergote
B 1040 BRUXELLES
BELGIQUE
tel : 32/2 733 98 88/16 90
fax : 32/2 733 04 13
mel : fil-idf@mail.interpac.be

ALF
34, rue de Saint Petersburg
75382 PARIS CEDEX
TEL : 01.49.70.71.11
FAX : 01.42.80.63.45

POINTS CRITIQUES ET TENDANCE DES METHODES KJELDAHL ET NOIR AMIDO

La méthode Kjeldahl et la méthode au Noir Amido sont deux méthodes distinctes dans leur principe. Mais, pour des raisons d'histoire et/ou de commodité, les laboratoires ont le choix d'utiliser l'une ou l'autre pour le dosage de routine des protéines ou pour le calibrage infra-rouge. Puisque la méthode au Noir Amido est calibrée par rapport à la méthode Kjeldahl, la comparaison des résultats obtenus par différents laboratoires ne doit pas, en principe, poser de problème. Mais ces méthodes comportent de nombreux points critiques. Tout défaut de maîtrise risque alors d'aboutir à des différences. Pour les éliminer, il faudra donc analyser méthodiquement les points critiques recensés dans la mise en oeuvre de chacune des méthodes.

La méthode Kjeldahl est la méthode de référence par excellence pour doser l'azote des produits agroalimentaires, et notamment du lait et des produits laitiers. Cependant, c'est la méthode au Noir Amido, de mise en oeuvre plus facile, mais néanmoins calibrée par rapport à la méthode Kjeldahl, qui a été choisie pour assurer de manière suffisamment économique les analyses de routine des protéines.

Actuellement la méthode Noir Amido tend à devenir méthode de référence secondaire dans de nombreux laboratoires où la spectrophotométrie infra rouge est utilisée comme méthode de routine. Mais parallèlement, d'autres laboratoires préfèrent, dans ce cadre, s'en tenir à la méthode Kjeldahl comme méthode de référence.

La coexistence de ces deux méthodes, de principe distinct, pour calibrer l'infra rouge, ou même pour doser en routine les protéines, ne devrait en principe pas poser de problème de comparaison entre laboratoires dans la mesure où l'une est calibrée par rapport à l'autre et que dans les deux cas elles sont correctement mises en oeuvre. Il importe pour cela de se montrer particulièrement attentif aux points critiques de chaque étape de l'une et l'autre méthode :

- minéralisation, distillation et titration pour la méthode Kjeldahl;
- système de prise d'essai, agitation, séparation du coagulum et mesure photométrique pour la méthode au Noir Amido

Historiquement, deux méthodes de dosage coexistent

La méthode Kjeldahl est reconnue et normalisée depuis fort longtemps au niveau international, dans la quasi totalité des pays

à productions laitières, quel que soit, par ailleurs le mode d'expression de la matière azotée. Elle est basée sur la minéralisation de l'échantillon par chauffage; suivie de l'alcalinisation des produits de la réaction et de la titration de l'ammoniaque libéré.

La méthode Noir Amido, plus simple à mettre en oeuvre, est basée sur la formation d'un complexe insoluble entre le colorant et les protéines, puis sur la mesure de l'absorbance de la solution qui reste après l'élimination du complexe.

Lors de la mise en place des premiers laboratoires interprofessionnels et de contrôle laitier, l'INRA de Poligny a eu pour mission d'assurer le contrôle et la garantie de la qualité des résultats d'analyses par la méthode au Noir Amido. D'où la mise en place d'un système de calibrage centralisé par envois mensuels d'échantillons de référence, service repris et développé depuis 1990 par CECALAIT. Ces échantillons de référence permettent depuis de calibrer les systèmes noir amido en place, en équivalent-Kjeldahl.

Parallèlement, depuis les années soixante-dix, la spectrophotométrie infra rouge, en se développant, supprime peu à peu la méthode au Noir Amido, en tant que méthode de routine, tandis que cette dernière se généralise progressivement dans les laboratoires d'entreprises en raison de sa rapidité et de sa simplicité d'utilisation.

La méthode au Noir Amido ne disparaît pourtant pas des laboratoires laitiers de grande routine mais prend dès lors le statut de méthode de référence secondaire pour les appareils infra rouge. En effet, les étalons pour noir amido ne peuvent être utilisés pour l'infra rouge qui, en raison de son principe, doit être calibré par chaque laboratoire à l'aide de laits de sa zone de collecte. L'objectif est alors de favoriser un système qui permette d'optimiser la reproductibilité de la méthode de référence choisie

pour les laboratoires. La méthode au Noir Amido et son système de calibrage centralisé répondent mieux à cet objectif que la méthode Kjeldahl, plus lourde, plus difficile et plus coûteuse.

C'est ce système qui est encore en place à l'heure actuelle pour l'activité paiement du lait et contrôle laitier et que tendent à utiliser à présent, de plus en plus nombreuses, les entreprises laitières qui ont franchi le pas de l'infra rouge. D'autres préfèrent en toute légitimité, opter pour l'usage de la méthode Kjeldahl.

Toutefois, le Journal Officiel fixe la méthode Kjeldahl comme méthode de référence; pour le paiement du lait. Dans le même document, il définit la méthode au Noir Amido comme la méthode officielle pour le paiement du lait, à calibrer par rapport à la méthode de référence. Les appareils infra rouge n'apparaissent que comme des instruments agréés d'emploi individuellement.

Puisque la méthode au Noir Amido est calibrée par rapport à la méthode Kjeldahl, la comparaison entre laboratoires ne devrait pas poser problème. Si ce n'est pas le cas, c'est que l'une ou l'autre des méthodes n'est pas correctement mise en oeuvre. Il faut alors examiner attentivement leur déroulement, qui comporte de nombreux points critiques.

↳ LES POINTS CRITIQUES DE LA METHODE KJELDAHL

① MINERALISATION

Les points critiques à surveiller lors de cette étape sont :

- * la qualité des différents réactifs (acide, catalyseur),
- * les quantités relatives entre prise d'essai et différents réactifs,
- * la température et le temps de minéralisation.

Un défaut de maîtrise aboutit à une minéralisation insuffisante ou à de la surchauffe, avec risque de vaporisation et de pyrolyse. Dans les deux cas, les résultats obtenus auront tendance à être minorés.

② DISTILLATION

Ici les points critiques à considérer concernent :

- * le déplacement total de l'ammoniaque par la soude, qui doit être en excès,
- * l'entraînement complet de l'ammoniaque déplacé ; le distillat doit être en volume suffisant,
- * la fixation complète de l'ammoniaque distillé par l'acide borique ; il faut surveiller la quantité de solution, sa concentration, l'agitation,
- * l'absence de fuite dans le système

Le défaut de maîtrise entraînera une récupération partielle de l'azote, d'où, à nouveau une tendance à des résultats sous-estimés.

③ TITRATION

L'ajustement et/ou la correction du « blanc » ainsi que la justesse du titre de l'acide de titration -dont la concentration est susceptible d'augmenter par évaporation au cours du temps - constituent les points critiques de cette étape. En règle générale, une maîtrise insuffisante de ces deux points aboutit de même, à des résultats plutôt par défaut.

↳ LES POINTS CRITIQUES DE LA METHODE NOIR AMIDO

① TOUT SYSTEME DE PRISE D'ESSAI

Le point critique lors de la prise d'essai est le risque de moussage des échantillons d'étalonnage. L'air est, en effet facilement émulsifiable dans les ETG non gras à 25, 30, 36 g/kg. D'où l'importance de la méthode utilisée pour le rinçage et la purge de la seringue. Un volume de prise d'essai trop faible est cause d'une sous-évaluation de l'étalonnage et induit un réajustage à la hausse non nécessaire. Ce défaut provoque une erreur pouvant aller jusqu'à +0,2-0,3 g/kg.

② AGITATION

La dispersion du coagulum protéines-colorant constitue le point critique de cette étape.

En effet, les sites de fixations protégés par un coagulum trop épais ne fixent pas de colorant. Une agitation ou un brassage instantané et vigoureux sont donc nécessaires. On constate d'ailleurs que la fixation est plus aisée sur les ETG reconstitués, du fait d'un coagulum fin.

De ce fait, des anomalies peuvent apparaître sur les laits naturels alors que le calibrage correct ne signale rien.

Cette étape mène généralement à des erreurs irrégulières par défaut, d'où une mauvaise répétabilité.

③ SEPARATION DU COAGULUM

Les points critiques sont ici :

- * la centrifugation, où temps et accélération centrifuge doivent être suffisants et correspondre aux minima de la norme V 04-216. Un défaut sur ce point conduit à des résultats généralement incohérents et peu répétables,
- * la filtration; où il faut veiller à la fois à la qualité des filtres (porosité, absence de pliures), à leur position sur le support et à la pression de filtration.

On notera, en particulier, que le coagulum obtenu sur les ETG reconstitués à 25, 30 et 36 g/kg est très fin et peut traverser le filtre en cas de défaillance. Ce n'est pas le cas avec les laits naturels.

Un passage de coagulum au cours de cette étape mène à un abaissement apparent des teneurs, par obscurcissement de la cellule. Ceci entraîne un réajustement de l'étalonnage à la hausse non nécessaire, d'où une tendance *in fine* à des résultats par excès, avec des erreurs pouvant aller jusqu'à + 0,2-0,3 g/kg.

➊ MESURE PHOTOMETRIQUE :

La réaction chimique impliquée dans la méthode au Noir Amido n'est pas complètement stoechiométrique, d'où une courbure légère de la réponse avec un photomètre linéaire

Pour corriger ce point critique, un étalonnage sur trois points est nécessaire, ce qui permet de réduire un écart qui est de l'ordre de +0,1-0,2 g/kg au niveau de 30 g/kg. Cette étape conduit donc elle aussi à un risque de surestimation des résultats.

Il faut enfin veiller à se placer dans une plage de réponse correcte. La plage de densités optiques (D.O.) utilisable doit ainsi pouvoir contenir le domaine d'application choisi pour la méthode, à savoir :

- 24 à 40 g/l pour le lait de vache
- 45-65 g/l pour le lait de brebis

Ceci implique de jouer sur le volume de prise d'essai. Le pH et la concentration de la solution de Noir Amido, le trajet optique

(cuvette) sont également des éléments qui conditionnent la "fenêtre" de D.O. et qu'il faut maîtriser. Les résultats hors fenêtre seront erronés, voire plafonnés et sans lien avec la méthode Kjeldahl. Selon le type d'appareil, ils pourront aussi ne pas apparaître, remplacés par un message d'erreur.

CONCLUSIONS

Par principe, les méthodes Noir Amido et Kjeldahl fournissent des résultats équivalents puisque la première est calibrée par rapport à la deuxième. Néanmoins, la méthode Kjeldahl insuffisamment maîtrisée a tendance à produire des **résultats sous-estimés**, alors que dans le même cas, la méthode Noir Amido a tendance à produire des **résultats surestimés**. La comparaison de résultats des deux méthodes ne peut donc se faire qu'à la lumière des contrôles qualités appliqués à l'une et à l'autre méthode.

(par O. Leray, in Réunion annuelle des Présidents et Directeurs des LIAL, Aurillac, 25-26 septembre 1997)

NORMES ET PROJETS DE NORMES PARUS RECEMMENT (reçus entre Octobre 1997 et Avril 1998)

NORMES EUROPEENNES

NF EN 12824, février 1998, AFNOR V 08-013. MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella*.

NF EN ISO 7932, mars 1998, AFNOR V 08-023. MICROBIOLOGIE. - Directives générales pour le dénombrement de *Bacillus cereus*.

Ces deux normes sont les deux premières normes européennes. Elle reprennent deux normes internationales et remplacent respectivement NF ISO 6579 (V 08-013) de décembre 1993 et NF ISO 7932 (V 08-023) de janvier 1994.

Nous ne disposons pas encore de ces textes. Aussi, nous précisons dans un prochain numéro quelles sont les modifications des méthodes, par rapport aux versions antérieures.

NORMES ISO

NF ISO 11866-1 Septembre 1997, -AFNOR V 04-019- (ICS 07.100.30; 67.100.10). LAIT ET PRODUITS LAITIERS. Dénombrement d'*Escherichia Coli* présumés. Technique du nombre le plus probable.

Cette norme remplace le projet du même intitulé. Ce document prescrit une méthode pour le dénombrement d'*Escherichia Coli* présumés, au moyen d'une technique de culture en milieu liquide et pour le calcul du nombre d'*Escherichia Coli* par gamme ou par millilitre, par la technique du nombre le plus probable après incubation à 37°C, puis à 44°C.

NF ISO 11866-2 Septembre 1997, -AFNOR V 04-020- (ICS 07.100.30 ; 67.100.10). LAIT ET PRODUITS LAITIERS. Dénombrement d'*Escherichia Coli* présumés. Technique du nombre le plus probable avec utilisation de 4-méthylumbelliféryl-b-d-glucuronide (MUG).

Cette norme remplace le projet du même intitulé. Ce document précise une méthode pour le dénombrement d'*Escherichia Coli* présumés, et des coliformes présumés, au moyen de la technique de culture en milieu liquide contenant du MUG et calcul du nombre d'*Escherichia Coli* présumés et/ou des coliformes par gamme ou par millilitre, par la technique du nombre le plus probable après incubation à 30°C.

NF ISO 12082 Octobre 1997, -AFNOR V 04-395- (ICS 67.100.30). FROMAGES FONDUS. Détermination, par calcul, de la teneur en émulsifiants et substances acidifiantes/ de contrôle du pH ajoutés, à base de citrate, exprimée en acide citrique.

Ce texte présente une méthode de calcul de la teneur en émulsifiants et substances acidifiantes dans les fromages fondus ne contenant pas d'ingrédients majeurs (autres que du lait en poudre et/ou du sérum en poudre) ayant une teneur appréciable en acide citrique.

Cette norme remplace le projet de norme du même numéro.

NF ISO 2963 Octobre 1997 -AFNOR V 04-285- (ICS 67.100.20) FROMAGES ET FROMAGES FONDUS. Détermination de la teneur en acide citrique. Méthode enzymatique.

Cette norme remplace le projet de norme. Ce texte décrit une méthode spectrométrique en remplacement de la méthode colorimétrique (NF 04-285 de Septembre 1970).

NF EN ISO 13366-1, 13366-2, 13366-3 Novembre 1997, AFNOR V 04-040-1, V 04-040-2, V 04-040-3- (ICS 67.100.10). LAIT. Dénombrement des cellules somatiques.

Ces normes remplacent les projets de même numéro. Ces documents prescrivent plusieurs méthodes pour le dénombrement des cellules somatiques à la fois dans le lait cru et dans le lait contenant des conservateurs chimiques : par microscope (1), à l'aide d'un compteur électronique de particules (2) et grâce au comptage fluoro-opto-électronique (3).

NF EN ISO 707 Décembre 1997, AFNOR V 04-150 (ICS 67.100.10). LAIT ET PRODUITS LAITIERS. Lignes directrices pour l'échantillonnage.

Ce document remplace la norme AFNOR de même numéro d'octobre 1985 en s'alignant sur le texte de la norme ISO. Pour chaque catégorie de produit laitier, il détaille les méthodes et les matériels d'échantillonnage, puis les conditions de conservation, de stockage et d'expédition des échantillons.

NORMES AFNOR

NF V 08-055 Aout 1997 (ICS 07.100.30). MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Recherche de *Listeria monocytogenes*. Méthode de routine.

Cette norme remplace la norme expérimentale V08-055 de décembre 1993.

Ce texte décrit une méthode de routine pour la recherche de *Listeria monocytogenes* dans les produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale.

NF V 04-263 Octobre 1997 (ICS 67.100.10) CREME. Détermination de la teneur en matière grasse. Méthode acido-butyrométrique (méthode de routine).

Cette norme remplace rigoureusement la norme V 04-263 d'Octobre 1989. La spécification de l'alcool amylique est précisé en annexe de la norme.

FD V 04-218 Octobre 1997. LAIT ET PRODUITS LAITIERS. Détermination de la teneur en matière grasse. Guide et directives générales appliquées aux méthodes butyrométriques.

Ce document rappelle les méthodes butyrométriques et de référence. Il décrit le principe d'une méthode butyrométrique et les conditions générales de sa mise en oeuvre, ainsi que le principe de validation d'une méthode interne par rapport à la méthode de référence.

Ce document s'inspire de la norme FIL 152 : 1991.

NF V 08-401 Octobre 1997 (ICS 07.100.30) MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Contrôle de la stabilité des produits appertisés et assimilés. Méthode de référence

Ce texte remplace le projet de même numéro ainsi que les normes V 08-401 de décembre 1976 et V 08-402 de mai 1977. Il s'en distingue notamment en établissant une seule méthode applicable, quel que soit le pH, aux conserves, mais aussi aux produits assimilés, c'est à dire conditionnés dans un emballage perméable aux gaz. Cette méthode consiste toujours à faire incuber des individus à des températures différentes et en

examiner l'aspect extérieur et différentes caractéristiques : pH, état de l'emballage, texture, odeur...Mais la notion de témoin décrite dans les versions antérieures disparaît au profit d'une incubation inférieure à 25°C et on ne calcule plus de facteur R, rapport entre le nombre de germes d'un individu incubé et celui d'un témoin.

NF V 08-403 Octobre 1997 (ICS 07.100.30) MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Méthode de prélèvement aseptique en vue de l'analyse microbiologique des produits appertisés et assimilés.

Cette norme remplace le projet correspondant et la norme de même numéro d'avril 1980. Il s'agit d'une réactualisation due à la révision en mai 1996 de la norme ISO 7218 consacrée aux règles générales pour les examens microbiologiques.

NF V 08-408 Octobre 1997 (ICS 07.100.30) MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Contrôle de la stabilité des produits appertisés et assimilés. Méthode de routine

Ce texte remplace le projet correspondant. Il simplifie la méthode de référence (V 08-401) en :

- transformant l'épreuve d'incubation à 32°C pendant 21j en une épreuve à 37°C pendant 7j (et éventuellement à 35°C pendant 10 j),
- supprimant l'examen microscopique systématique,
- divisant par deux le nombre d'individus examinés par lot.

NF V 08-409 Octobre 1997 (ICS 07.100.30) MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Détermination du pH des produits appertisés et assimilés. Méthode de routine

Ce texte simplifie la méthode de référence (NF ISO 11289, V 08-406, de décembre 1993) principalement en supprimant l'étape de broyage mécanique.

PROJETS DE NORME AFNOR SOUMIS A ENQUETE

Projet V 03-110. ANALYSE DES PRODUITS AGRICOLES ET ALIMENTAIRES. Procédure de validation interlaboratoire d'une méthode alternative par rapport à une méthode de référence.

Projet V 04-054-1. LAIT ET PRODUITS LAITIERS. Détermination de l'activité de la Phosphatase alcaline à l'aide de la méthode fluorométrique. Lait et boissons à base de lait.

Projet V 04-056. LAIT ENTIER. Détermination des teneurs en matière grasse laitière, en protéines et en lactose. Lignes directrices pour l'utilisation des appareils de dosage par absorption dans le domaine infra-rouge.

Projet V 04-261. CREME. Détermination de la teneur en matière grasse. Méthode gravimétrique (méthode de référence).

Projet V 04-345. LAIT CONCENTRE SUCRE ET NON SUCRE. Détermination de la teneur en matière grasse. Méthode gravimétrique (méthode de référence).

Projet V 08-010-1. (NF EN ISO 6887-1) Novembre 1997. MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Préparation des échantillons de la suspension mère et des dilutions en vue de l'examen

microbiologique. Partie 1 : règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.

Projet V 08-014-1. MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). *Partie 1 : Technique avec confirmation des colonies.*

Projet V 08-014-2. MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Méthode des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). *Partie 2 : Technique sans confirmation des colonies.*

NORMES FIL

149A:1997. LEVAINS LACTIQUES DE CULTURES DE BACTERIES LACTIQUES. Norme de composition.

Cette norme remplace la norme FIL 149:1991. Elle fait référence aux levains lactiques issus de cultures lactiques et utilisés pour la fabrication de produits laitiers fermentés : laits fermentés, beurre de crème acide et fromage.

180:1997. LEVAINS LACTIQUES MESOPHILES. Dénombrement des bactéries lactiques fermentant le citrate. Comptage des colonies à 25°C.

Cette méthode concerne les levains lactiques et les produits dans lesquels ces microorganismes sont viables. Ils sont dénombrés après une incubation sur milieu sélectif contenant du citrate et des indicateurs spécifiques. La durée d'incubation est de 4 ou de 5 j selon les espèces recherchées.

VALIDATIONS AFNOR

Mmes ROBERT et MEYER de l'AFNOR nous ont fourni des informations concernant les méthodes alternatives d'analyse. Cinq nouvelles méthodes ont été validées, trois ont vu leur validation reconduite pour 4 ans et quatre autres ont eu une prolongation de date de fin de validation.

VALIDATIONS NOUVELLES

Il s'agit de trois méthodes Petrifilm P 2000, du milieu Rapid'E. coli 2 et du Probelia *Listeria monocytogenes*.

↳ **les trois méthodes Petrifilm P 2000** sont développées par les laboratoires 3M Santé. Elles sont basées sur le principe des films secs rehydratables. Ceux-ci sont enduits d'un milieu de culture pour les coliformes, d'un agent gélifiant soluble à l'eau froide, d'un indicateur de pH permettant de détecter la production d'acide et d'un indicateur au rouge de tétrazolium pour repérer la croissance des colonies. Au cours de leur croissance, les colonies grossissent et produisent de l'acide, qui fait peu à peu virer l'indicateur de pH du rouge au jaune. Elles peuvent également produire du gaz, piégé par le film autour d'elles. Les trois méthodes validées jusqu'au 18/03/2001 sont :

- ♦ PETRIFILM P 2000 numération rapide des coliformes, lecture à 14 heures, applicable à tous les produits d'alimentation humaine, où les colonies de coliformes apparaissent comme de discrètes zones jaunes au bout de 14h (*n° attestation 3M-01/5-03/97A*)
- ♦ PETRIFILM P 2000 numération rapide des coliformes, lecture à 24 heures des colonies gazogènes et non-gazogènes, également applicable à tous les produits d'alimentation humaine. Au bout de 24h, les coliformes sont comptés comme étant les colonies rouges entourées ou non de gaz. (*n° attestation : 3M-01/5-03/97B*)
- ♦ PETRIFILM P 2000 numération rapide des coliformes, lecture à 24 heures des colonies gazogènes, applicable à tous les produits d'alimentation humaine, sauf les produits

de la charcuterie. Au bout de 24h, les colonies gazogènes y apparaissent rouges, entourées de bulles de gaz. (*n° attestation 3M-01/5-03/97C*)

↳ **Le milieu RAPID'E. coli 2** de la société SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR a été validé jusqu'au 19.11.2001. C'est un milieu de dénombrement des *Escherichia coli*, applicable à tous les produits alimentaires. Il inhibe la croissance des bactéries Gram + et des Gram -, autres que les entérobactéries. Les colonies d'*E. coli* y sont détectées en 24h, contre 4 jours par la méthode de référence, grâce à la présence de deux substrats chromogéniques. L'un réagit à l'activité de l'enzyme β -D-glucuronidase (GLU) par une coloration rose ; l'autre à l'activité de l'enzyme β -D-galactosidase (GAL) par une coloration bleue. Les colonies d'*E. coli* (GLU+/GAL+) y sont alors de couleur rose à violette, selon qu'il y ait ou non une flore interférente importante.

n° d'attestation : SDP -07/1 -07/93.

A noter : la "Version 1" de ce milieu a cessé d'être valide au 31/12/1997.

↳ **Le test Probelia *Listeria monocytogenes*** de la société SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR, applicable aux produits laitiers, a été validé le 21/01/1998 pour une durée de 4 ans.

Ce test repose sur l'amplification génique, par PCR (*polymerase chain reaction*) de séquences nucléiques spécifiques de *Listeria monocytogenes*, après une phase de pré-enrichissement et préparation des échantillons. Les fragments amplifiés sont ensuite détectés par hybridation sandwich avec des sondes spécifiques sur microplaque. Cette méthode rapide permet d'obtenir des résultats négatifs et positifs en 2 jours contre 3 à 8 jours, selon les cas, pour la méthode de référence. Cependant, comme pour toute méthode PCR, une grande rigueur de manipulation et une formation préalable de l'opérateur sont nécessaires.

n° d'attestation : SDP -07/3 - 01/98

RECONDUCTIONS DE VALIDATIONS

Les méthodes rapides d'analyses suivantes ont vu leur validation reconduite pour 4 ans.

- ♦ **Kit de détection de *Salmonella* SPP TRANSIA**, validé jusqu'au 20/01/2002
- ♦ **Kit Locate de détection des salmonelles**, distribué par RHONE-POULENC DIAGNOSTICS, validé jusqu'au 20/1/2002
- ♦ **Penzym 100**, test de recherche spécifique des β -lactamines, distribué par la société UCB, validé jusqu'au 23/3/2002

PROLONGATIONS DE VALIDATIONS

Enfin, les méthodes rapides suivantes voient leur validité prolongée jusqu'au 23/6/1998, jusqu'à la fin de l'instruction de leur dossier de reconduction.

- ♦ Système d'immuno-analyse Mini Vidas avec le kit VIDAS *Salmonella*, de la société Biomérieux,
- ♦ Pétrifilm Coliformes de la Société 3M SANTE,
- ♦ *Salmonella* 1 - 2 test, distribué par AES Laboratoire.

DU COTE DE LA BIBLIO

Vous trouverez ci-joint la liste complète des références repérées pour intégration dans notre base de données sur les techniques analytiques laitières au cours du dernier semestre.

Si vous souhaitez obtenir des précisions sur ces références, ou la copie d'un document signalé, n'hésitez pas à prendre contact avec nous.