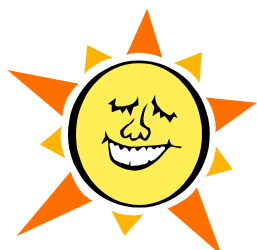


**2007**  
2<sup>e</sup> trimestre  
**N°37**



# LA LETTRE DE CECALAIT

CECALAIT INRA SRTAL BP 89 39801 Poligny TEL : 03.84.73.63.20 TELECOPIE : 03.84.73.63.29  
E-mail : [bapt@poligny.inra.fr](mailto:bapt@poligny.inra.fr) ou [trossat@poligny.inra.fr](mailto:trossat@poligny.inra.fr)

Rédaction achevée le 17 juillet 2001

rédaction : A. BAPTISTE

Relecture par : H. DAMOUR, Ph. DE GUENIN, J.P. MORETAIN, Ph. TROSSAT

## SOMMAIRE

Détection des substances inhibitrices dans le lait

Validations AFNOR

Nouveautés dans la réglementation

Du côté de la biblio...

Normes et projets de normes parus récemment

Rendez-vous

*Bonnes vacances*

## Détection des substances inhibitrices dans le lait

La présence éventuelle de résidus de médicaments vétérinaires antibactériens dans le lait est source de problèmes technologiques lors de la fabrication de fromages ou de yaourts et peut constituer un risque pour la santé publique. Des méthodes permettant la détection facile, rapide et à grande échelle sont indispensables pour le tri des laits. Il s'agit de tests d'inhibiteurs microbiens, basés sur la mise en évidence de l'inhibition de la croissance d'un microorganisme donné au cas où des résidus d'antibactériens sont présents dans le lait examiné. Les microorganismes tests les plus utilisés sont *Bacillus stearothermophilus*, var. *calidolactis* ou *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*; plus rarement *Bacillus subtilis* ou *Micrococcus luteus*. Outre une grande facilité d'emploi et de bonnes performances de répétabilité et reproductibilité, ces tests ont pour but de permettre la détection du plus large spectre possible d'antibactériens, à des sensibilités proches des LMRs – définies par la réglementation - pour toutes les catégories d'antibactériens. Dans la pratique, cette exigence théorique ne peut être totalement respectée. Le choix entre différents tests dépend donc d'une réflexion d'ensemble tenant compte des substances à rechercher le plus probablement, des conditions pratiques, de l'existence de tests de confirmation plus ciblés et plus sensibles...

Dès leur apparition dans les années 1930-1940, les substances antibactériennes (antibiotiques et sulfamides) ont été utilisées pour traiter les affections des vaches laitières [18], principalement pour la prévention et le traitement des mammites [15]. Cependant, la présence éventuelle de résidus dans le lait est une source de problèmes technologiques, lors de la fabrication de fromage ou de yaourt... Elle peut, en outre, constituer un risque pour la santé humaine, d'où progressivement, la fixation de limites maximales de résidus (LMRs) dans la réglementation. La recherche des résidus d'antibactériens, ou plus largement, de tout type de substance inhibitrice s'est donc révélée rapidement indispensable. De nombreux tests ont donc été développés au fil des années et restent en constante évolution, comme l'atteste le nombre d'articles sur ce point, parus dans la littérature scientifique et technique du domaine. L'ensemble couvre toutes les étapes envisageables dans une recherche de résidus : il y a ainsi des tests pour leur détection, d'autres pour la confirmation des échantillons présumés positifs, d'autres pour la détection ou l'identification de familles précises d'antibactériens. Les principes des tests diffèrent grandement selon l'objectif visé. Pour la confirmation ou l'identification d'inhibiteurs donnés, sont ainsi proposées des méthodes immunoenzymologiques, radio-immunologiques, enzymatiques, chromatographiques, électrophorétiques, mais aussi microbiennes.

En revanche, pour l'étape de détection des résidus d'inhibiteurs, qui nous intéresse plus particulièrement ici, il s'agit presque uniquement de méthodes microbiennes, c'est à dire, qui visent à mettre en évidence l'inhibition d'un microorganisme test.

Les inhibiteurs sont des substances qui, agissant au niveau moléculaire par divers mécanismes biochimiques, bloquent ou inhibent la croissance d'un ou plusieurs groupes bactériens. Il peut s'agir de désinfectants, détergents, conservateurs, pesticides, certains additifs alimentaires...et de médicaments vétérinaires, dont les anticoccidiens et surtout les antibactériens...

### ↳ Les antibactériens

Les antibactériens sont constitués principalement d'antibiotiques et d'agents chimiothérapeutiques, notamment les sulfamides (ou sulfonamides, plus exactement). Développés dans les années 1930 et aussitôt utilisés dans le traitement des maladies infectieuses, les sulfamides, sont des antibactériens synthétiques. En revanche, les antibiotiques sont des substances produites par

certaines microorganismes, qui inhibent la croissance d'autres microorganismes –voire leur propre croissance-. Les premières observations de telles activités remontent au XIXe siècle, mais c'est dans les années 1930-1940, avec la découverte de la pénicilline, puis de nombreuses autres substances, qu'elles ont été approfondies et que la recherche de substances antimicrobiennes, produites par des microorganismes est devenue systématique. Utilisés en thérapeutique humaine dès le début des années 1940, les antibiotiques ont également été rapidement introduits en médecine vétérinaire, mais aussi utilisés en tant qu'additifs dans l'alimentation animale. Dans l'élevage bovin, leurs indications concernent principalement les mammites (dus à *Staphylococcus aureus*, ainsi qu'à d'autres germes Gram+ ou Gram-), les traitements préventifs lors du tarissement et quelques pathologies non mammaires (locomotion, problèmes pulmonaires) [8].

Leur gamme n'a cessé de s'élargir depuis, grâce à la recherche microbiologique et au développement, pour certaines familles, des travaux d'hémisynthèse. Ils sont maintenant divisés en une dizaine de familles différentes. Ce sont les :

- $\beta$ -lactamines, elles-mêmes subdivisées en plusieurs sous-familles, dont les pénicillines, les céphalosporines...
  - tétracyclines,
  - phénicolés, principalement le chloramphénicol,
  - aminoglycosides, par exemple la néomycine, la streptomycine et ses analogues,
  - macrolides, par exemple l'érythromycine,
  - polypeptides, par ex. la bacitracine,
  - lincosamides,
  - ansamycines, par ex. la rifamycine,,
- et d'autres encore.

Les  $\beta$ -lactamines sont la catégorie la plus largement utilisée dans l'élevage [7], cependant des observations récentes montrent une augmentation de la part des autres catégories (20% des échantillons positifs et plus [7]) : aminoglycosides, tétracyclines, macrolides [7], sulfamides [14], seules ou combinées à une  $\beta$ -lactamine [15]).

Le lait provenant de vaches traitées par des antibactériens doit être éliminé de la collecte pendant la durée du traitement, puis

pendant un certain temps d'attente, prescrit par le fabricant. Cependant, il peut arriver que des résidus d'antibactériens restent présents dans le lait collecté, principalement à cause [8,13] :

- du non-respect, souvent accidentel, de ce temps d'attente,
- de la mauvaise observation des recommandations d'utilisation des médicaments,
- de contaminations accidentelles lors de la traite,
- de périodes d'excrétion du médicament anormalement longues chez certains animaux malades,
- d'un vêlage trop précoce,
- de la présence d'antibactériens dans l'alimentation animale, bien qu'ils soient, en principe, exclus des aliments pour l'élevage laitier.

## ↳ Des résidus indésirables

Or la présence de ces résidus pose à la fois des problèmes technologiques et des problèmes de santé publique. Du point de vue technologique, ils perturbent gravement les processus de fermentation du lait, d'où des conséquences sévères en fabrication de fromages ou de yaourts. [13]

Du point de vue de la santé publique, les risques sont, à la fois d'ordre pharmaco-toxicologiques, microbiologiques (risque de favoriser l'apparition de germes résistants ou pathogènes dans la flore intestinale) ou allergiques. Ces risques sont pris en compte au cours d'études toxicologiques, qui permettent de déterminer, pour chaque antibactérien :

- la dose journalière admissible (DJA), puis à partir de là,
- la limite maximale de résidus (LMR), dans le lait et d'autres aliments.

*NB : Les LMRs sont des concepts utilisés dans le Codex et dans les textes de l'Union Européenne ; aux Etats-Unis, la FDA se réfère à un concept voisin de fourchette de tolérance (safe/tolerance level). Ces deux valeurs peuvent éventuellement différer pour une même substance.*

- et enfin le temps d'attente.[12].

La recherche des résidus d'antibiotiques ou de sulfamides dans le lait s'intéresse donc à ces deux aspects. Du point de vue de la sécurité technologique, les systèmes de paiement du lait à la qualité sont très pénalisants pour les producteurs, en cas de présence d'inhibiteurs. Du point de vue de la santé publique, pendant longtemps, la seule LMR existante concernait la pénicilline [12]. En 1990, dans l'Union Européenne, une procédure communautaire de fixation des LMRs dans les aliments d'origine animale, a été mise en place et depuis, petit à petit, des LMRs sont déterminées pour l'ensemble des médicaments vétérinaires. (cf ci-dessous).

Il y a cependant souvent un fossé entre les concentrations de résidus considérées comme "technologiquement saines" et celles fixées en santé publique [12]. Dès lors, on observe de continuelles tentatives d'amélioration de la sensibilité des tests existants ainsi que le développement de tests nouveaux.

Le survol de la littérature des dernières années montre ainsi la parution de plus d'une centaine d'articles sur la recherche des résidus d'antibactériens en général, ou de certaines catégories d'antibiotiques et/ou sulfamides, en particulier, proposant aussi bien des évolutions de méthodes existantes que de nouvelles méthodes. Parallèlement, on peut également y constater des interrogations sur le positionnement des méthodes officielles en cours, par rapport aux LMRs et par rapport à ces évolutions méthodologiques [6, 14].

Au point de vue réglementaire, cette activité intense s'observe principalement, comme on l'a vu, pour la fixation des LMRs. Le texte d'origine est le règlement 2377/90 du 26/6/1990 définissant la procédure communautaire de fixation des LMRs dans les aliments d'origine animale. Il comportait un certain nombre d'annexes, initialement vides, réservées respectivement :

- " à la liste des substances pour lesquelles des LMRs ont été fixées " (annexe I),
- à la liste des substances non soumises à LMR (annexe II),
- à la liste des substances pour lesquelles des LMRs provisoires ont été fixées (annexe III),
- à la liste des substances pour lesquelles aucune LMR ne peut être fixée " (annexe IV).

Les LMRs des substances actives des médicaments vétérinaires – dont les antibactériens-, intégrées progressivement dans l'annexe I, sont fixées après évaluation scientifique par le Comité des Médicaments Vétérinaires (instance d'expertise établie par la Commission), à partir de la DJA, en tenant compte de facteurs de sécurité. Lorsque les études n'ont pas encore été achevées, une LMR provisoire peut être fixée pour une durée maximale de 7 ans (5 ans initiaux avec possibilité de prolongation exceptionnelle de 2 ans), qui sera donc intégrée à l'annexe III. A l'issue de l'évaluation, il y a, soit effectivement fixation d'une LMR (intégrée alors en annexe I) ; soit il n'apparaît pas nécessaire pour la protection de la santé publique de fixer une limite maximale et la substance est alors intégrée en annexe II. Enfin, pour certaines substances, il s'avère que leurs résidus, " quelle que soit leur limite, constituent un risque pour la santé du consommateur ". Aucune LMR ne peut donc leur être fixée et ces substances, interdites d'utilisation, sont alors intégrées en annexe IV. En ce qui concerne les antibactériens, c'est notamment le cas du chloramphénicol et de la dapsonne.

Avec cette procédure, ces annexes se sont ainsi remplies au rythme moyen de 5 à 10 règlements modificateurs par an. Le dernier texte résumant l'ensemble des modifications effectuées et récapitulant le contenu de chacune d'entre elles est le règlement n° 508/1999, daté du 4/3/1999. Mais depuis, plus de vingt textes modificateurs sont venus compléter les listes établies alors ! Cependant, l'ensemble des textes en vigueur sur ce point peut être consulté sur le site Internet de l'Union Européenne, à l'adresse suivante : [http://europa.eu.int/lex/fr/lif/dat/1990/fr\\_390R2377.html](http://europa.eu.int/lex/fr/lif/dat/1990/fr_390R2377.html).

Les méthodes officielles de détection d'inhibiteurs, même lorsqu'elles ont été publiées avant les débuts de la procédure de fixation des LMRs, ont connu moins de variations. Elles sont généralement différentes d'un pays à l'autre, mais le plus souvent basées sur des tests d'inhibiteur microbien. Pour l'Union Européenne, les méthodes en vigueur sont décrites dans :

- la décision 91/180 pour la détection dans le lait cru et le lait traité thermiquement (pages 39-47), [2]
- le règlement n° 213/2001 pour le lait écrémé en poudre. (page 79) [5].

Pour la France, c'est l'arrêté du 2 septembre 1983 qui établit les méthodes de tri et de confirmation [1]. Toutefois, pour le paiement du lait, cette situation est en passe d'évoluer, puisque les pouvoirs publics ont accepté, à la demande de l'Interprofession de modifier le principe de la méthode. La nouvelle technique de screening (tri), basée sur l'utilisation du germe *Bacillus stearothermophilus* (cf ci-dessous) sera effective au 1/1/2002.

Dans la multitude de tests existants, il est possible de procéder à un regroupement en deux grandes catégories selon le but visé. Certains tests ont pour objectif de détecter tous les, en tout cas le maximum, d'inhibiteurs possibles. Ils sont utilisés pour le tri (screening) d'un grand nombre d'échantillons de lait, par exemple dans le cadre du paiement du lait à la qualité ou d'auto-contrôles à la ferme ou en industrie laitière. Il s'agit de tests d'inhibiteur microbien, où est mise en évidence l'inhibition d'un microorganisme test. Ces méthodes présentent un certain nombre de traits communs, que nous passerons en revue ci-dessous, avant de détailler leurs différences.

D'autres tests ont pour objectif de détecter spécifiquement une substance ou un groupe de substances données. Ils sont utilisés pour la confirmation des échantillons présumés positifs ou pour la détection ou l'identification de familles précises d'antibactériens. Il peut s'agir à nouveau de méthodes microbiennes, mais faisant alors appel à des techniques de diffusion sur différents milieux gélosés. Mais on trouve en outre de nombreuses autres méthodes, de principe très différent, selon le type de substance recherchée : méthodes enzymatiques, immunoenzymologiques, radio-immunologiques, chromatographiques, électrophorétiques... En dehors d'études expérimentales, ces tests sont conçus pour intervenir plutôt en deuxième étape (ou plus) lors des recherches de résidus d'antibactériens.

## ↳ Les tests d'inhibiteurs microbiens pour le tri

### ➤ POINTS COMMUNS

Il s'agit d'exposer une espèce bactérienne donnée, caractéristique d'un type de test, à l'échantillon de lait à tester et de mettre en évidence par différents moyens, également caractéristiques d'un type de test, une éventuelle inhibition de la croissance des microorganismes si l'échantillon contient des résidus d'antibactériens.

Les microorganismes tests sont généralement issus des genres *Bacillus*, *Micrococcus* et *Streptococcus*... Ils doivent nécessairement être sensibles à un large spectre d'antimicrobiens : antibiotiques de différentes familles et sulfamides. En effet, une méthode de tri satisfaisante doit permettre la détection de la plus grande variété possible d'antimicrobiens. Les tests microbiens de tri devraient, en outre, partager l'ensemble des caractéristiques suivantes, reprises d'après un " portrait " du test d'inhibiteur microbien idéal, donné en [18] :

- Au point de vue des possibilités de détection : permettre de détecter un large spectre d'antimicrobiens, à des concentrations proches des LMRs,
- au point de vue pratique : être peu cher, rapide, facile d'emploi, ne nécessitant en particulier, ni main d'œuvre, ni équipement spécialisé, être éventuellement automatisable ,
- pour limiter les risques de faux positifs : être peu sensible aux inhibiteurs naturels du lait, tels que le lysozyme ou la lactoferrine,
- pour limiter les risques de faux positifs et/ou de faux négatifs : être peu sensible à d'éventuelles interférences liées à la microflore de l'échantillon ou à la procédure suivie (conditions d'incubation, volume des prises d'essai ...etc),
- au point de vue des caractéristiques analytiques : être répétable et reproductible.

Il apparaîtrait, en outre, souhaitable que d'éventuelles étapes de confirmation, d'identification, voire de quantification soient faciles à pratiquer dans la " foulée " d'un premier test de tri. [18].

### ➤ OBSERVER L'INHIBITION DE LA CROISSANCE

Selon les tests, les cultures des microorganismes tests sont, soit prêtes à l'emploi, dans une microplaque, par exemple, soit à reconstituer à partir de souches de collection, dans des milieux bien définis. Le contact avec le l'échantillon de lait se fait, soit par diffusion quand la culture est en milieu gélosé, soit directement dans le milieu liquide de culture. Dans ce dernier cas, les protocoles expérimentaux prévoient alors, le plus souvent, un chauffage préalable de l'échantillon à tester afin d'inactiver les inhibiteurs naturels du lait [9]. Quand l'échantillon de lait testé contient des antibactériens, la croissance du microorganisme test est inhibée. Selon les tests, ce fait est mis en évidence par :

- en milieu gélosé sur boîte, observation d'une zone d'inhibition de croissance, plus ou moins importante aux abords d'un disque imprégné de l'échantillon. Cette zone est plus claire que le reste du milieu ; la différence de coloration pouvant éventuellement être renforcée par la présence d'un indicateur coloré.
- observation de l'éventuel virage d'un indicateur coloré de pH. En effet, la croissance normale des microorganismes test se solde par une acidification du milieu, d'où virage de l'indicateur coloré. En présence d'antibactériens, la croissance est plus ou moins gravement perturbée, d'où une moindre acidification et l'absence de virage. Plus rarement, l'(absence d')acidification peut être mise en évidence par titration.
- Sur un principe voisin, observation de l'éventuel virage d'un indicateur redox, puisque la croissance normale des microorganismes se solde par une réduction des composés du milieu.
- Toujours selon un principe voisin, certains tests reposent sur le changement de couleur (ou non) d'un substrat chromogénique spécifique d'une enzyme produite lors de la croissance normale des microorganismes.

## ➤ TESTS D'INHIBITEURS MICROBIENS

Les tableaux ci-dessous tenteront de faire un tour d'horizon (**non exhaustif**) des différents tests d'inhibiteurs microbiens utilisables pour le tri (screening) des laits.

Ils s'inspirent grandement de la description détaillée des méthodes données dans un inventaire publié par la FIL dans son bulletin n° 258 de 1991 [9], ainsi que de certains articles issus de la monographie publiée sur cette question par la FIL en 1995 [10], notamment des articles [16] et [18]. Les différents tests y seront séparés par rapport aux espèces bactériennes-test sur lesquelles ils reposent. Certains ont fait l'objet de nombreux développements pour améliorer leur sensibilité ou leur facilité d'emploi et il en existe donc plusieurs déclinaisons, bien que le principe de base

soit resté identique ; d'autres ont pu, au contraire tomber en désuétude. Seule une veille portant à la fois sur la (l'abondante) littérature scientifique et technique du domaine et sur les gammes de tests proposés par les fournisseurs permettrait de donner une information exhaustive et - momentanément - à jour. Ce n'est pas notre but aujourd'hui.

Les valeurs annoncées pour la sensibilité des différents tests doivent être considérées avec précaution. Certaines valeurs sont, en effet, issues d'études parcellaires, aux conditions mal connues. En outre, les différences de composition de lait peuvent affecter notablement les résultats, surtout pour de faibles concentrations d'antibactériens. Cette influence apparaît cependant plus limitée en présence de gélose.

tableau 1 : tests reposant sur *Bacillus stearothermophilus*, var. *calidolactis*  
table 1 : tests based upon the use of *Bacillus stearothermophilus*, var. *calidolactis*

nom	principe	durée et température	spectre (partiel)	Limite de détection en µg/l	LMR en µg/kg, d'après [4] sauf indication contraire	réf.
name	principle	duration and temperature	spectrum (partial)	Detection limit in µg/l	MRL in µg/kg, from [4] unless otherwise stated	
	diffusion sur boîte de gélose à partir d'un disque et obtention d'une zone d'inhibition  disk assay plate method, giving a clear inhibition zone around the disk	3-4h à 55°C ou 64°C	pénicilline	4.8	4	[9]
FIL / IDF 57 :1970	<i>id.</i>	2.5-5h à 55°C	<u>β-lactamines</u> pénicilline ampicilline cloxacilline <u>tétracyclines</u> tétracycline HCl oxytétracycline <u>aminoglycosides</u> néomycine dihydrostreptomycine <u>macrolides</u> erythromycine <u>chloramphénicol</u> <u>sulfonamides</u>	3.6 5 35 400 500 22000 13000 2250 15000 100-1000	4 4 30 100 100 500*** 200*** 40**** 0 100	
	<i>id.</i> + indicateur coloré de croissance <i>id.</i> + indicator	55 ou 64°C jusqu'à obtention d'une zone d'inhibition > 14 mm  inhibition zone > 14 mm				

méthode officielle australienne <b>australian official method</b>	<i>id.</i>	obtention d'une zone d'inhibition <b>inhibition zone</b>	<u>β-lactamines</u> ampicilline oxytétracyclineHCl	5 150-500	4 100	[15]
kit CIA (Charm Inhibition Assay)	<i>id.</i> + indicateur pH <i>id.</i> +pH indicator	3h20 à 64°C	<u>β-lactamines</u> pénicilline ampicilline cloxacilline <u>tétracyclines</u> tétracycline HCl oxytétracycline <u>macrolides</u> erythromycine <u>sulfonamides</u>	3.6 10 100 200 250 250 5-10	4 4 30 100 100 40**** 100	[9]
méthode officielle UE et autres <b>EU official method and others</b>	diffusion en tube de gélose + indicateur pH <b>tube diffusion method + pH indicator</b>	2,5-2,75 h à 63°C	cf FIL 57 :1970			[2] [9]
kits BRT * (test réduction noir brillant) méthode officielle de routine allemande <b>Brillant black reduction test, official German routine method</b>	<i>id.</i> + indicateur redox  <i>id.</i> + redox indicator	2,5-3,5h à 60-70°C	<u>β-lactamines</u> pénicilline ampicilline cloxacilline <u>tétracyclines</u> tétracycline HCl oxytétracycline <u>aminoglycosides</u> néomycine dihydrostreptomycine <u>macrolides</u> tylosine <u>chloramphénicol</u> <u>sulfonamides</u>	1.1** 1.5** 13** 70** 50** 175** 1750** 20** 1500** 1-350	4 4 30 100 100 500*** 200*** 50 0 100	[14]
kits Delvotest et apparentés* méthode officielle de routine britannique, belge, néerlandaise,... une des méthodes de routine suédoise  <b>Delvotest kits * and others official British, Dutch, Belgian... routine methods one of swedish routine methods</b>	<i>id.</i> + indicateur pH  <i>id.</i> +pH indicator	2,5-2,75h à 64°C	<u>β-lactamines</u> benzylpénicilline ampicilline <u>tétracyclines</u> tétracycline HCl oxytétracycline <u>aminoglycosides</u> dihydrostreptomycine <u>macrolides</u> spiramycine <u>sulfonamides</u>	1-3 2.5 1000 200-400 4000-6000 1000-2000 400-800	4 4 100 100 200*** 200 100	[7] [15] [17] [7] [7] [7]

méthode officielle italienne  italian official method	diffusion en gélose + indicateur pH		<u>β-lactamines</u> pénicilline G ampicilline cloxacilline	4 4 30	4 4 30	[6]
	agar diffusion. +pH indicator		<u>aminoglycosides</u> néomycine dihydrostreptomycine <u>macrolides</u> tylosine <u>sulfonamides</u>	500 250 50 100-500	500*** 200*** 50 100	
kit Charm Farm test	milieu liquide + indicateur pH  liquid medium + pH indicator	3h50 à 67°C	<u>β-lactamines</u> pénicilline ampicilline cloxacilline <u>tétracyclines</u> tétracycline HCl oxytétracycline <u>macrolides</u> erythromycine <u>sulfonamides</u>	2.4 4 50 60 100 250 100-150	4 4 30 100 100 40**** 100	[9]

tableau 2 : tests reposant sur *Bacillus subtilis*  
table 2 : tests based upon the use of *Bacillus subtilis*

nom  name	principe  principle	durée et température  duration and temperature	spectre (partiel)  spectrum (partial)	Limites de détection en µg/l  Detection limit in µg/l	LMR en µg/kg, d'après [4] sauf indication contraire  MRL in µg/kg, from [4] unless otherwise stated	réf.
Arla Microtest  a été une des méthodes de routine suédoise  was one of swedish routine methods	microcupules + indicateur redox  microwells + redox indicator	6h à 40°C	<u>β-lactamines</u> benzylpénicilline	2.4	4	[7]
			<u>tétracyclines</u> tétracycline HCl oxytétracycline <u>aminoglycosides</u> néomycine dihydrostreptomycine <u>macrolides</u> erythromycine <u>chloramphénicol</u> <u>sulfonamides</u>	100 100 2500 5000 600 600 1000	100 100 500*** 200*** 40**** 0 100	[9]
AOAC " test de terrain "  AOAC field test	diffusion sur boîte de gélose et obtention d'une zone d'inhibition  disk assay plate method, giving a clear inhibition zone around the disk	au plus rapide 3-4h à 37°C	<u>β-lactamines</u> pénicilline	12	4	[9]

tableau 3 : tests reposant sur *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*  
 table 3 : tests based upon the use of *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*

nom name	principe principle	durée et température duration and temperature	spectre (partiel) spectrum (partial)	Limites de détection en µg/l Detection limit in µg/l	LMR en µg/kg, d'après [4] sauf indication contraire MRL in µg/kg, from [4] unless otherwise stated	réf.
méthode officielle française et autres méthodes d'acidification french official method and other acidification methods	culture en milieu liquide + indicateur pH liquid medium + pH indicator	2,5h à 45°C	<u>β-lactamines</u> pénicilline ampicilline cloxacilline <u>tétracyclines</u> tétracycline HCl oxytétracycline <u>macrolides</u> erythromycine <u>chloramphénicol</u> <u>sulfonamides</u>	3 5 200 400 400 60 1200 100-1000	4 4 30 100 100 40**** 0 100	[9]
Accusphere (Intertest)	<i>id</i> mais souche et indicateur prêts à l'emploi (lyophilisés) <i>id</i> but lyophilized strain and indicator	4h à 45°C	<u>β-lactamines</u> pénicilline ampicilline cloxacilline <u>tétracyclines</u> tétracycline HCl oxytétracycline <u>aminoglycosides</u> néomycine streptomycine <u>macrolides</u> erythromycine tylosine <u>chloramphénicol</u> <u>sulfonamides</u>	6 4 200 500 500 10000 5000 100 1000 500 200	4 4 30 100 100 500*** 200*** 40**** 50 0 100	[9]
Valio T 101	<i>id.</i> mais souche, milieu et indicateur prêts à l'emploi (lyophilisés) <i>id</i> but lyophilized strain, medium and indicator	4,5 h à 42°C	<u>β-lactamines</u> pénicilline ampicilline cloxacilline <u>tétracyclines</u> tétracycline HCl oxytétracycline <u>aminoglycosides</u> néomycine streptomycine <u>macrolides</u> erythromycine <u>chloramphénicol</u> <u>sulfonamides</u>	3 10 100-200 150-200 150-200 200-500 500-1000 50 500-1000 1000	4 4 30 100 100 500*** 200*** 40**** 0 100	[9] [13] [7]



test bioluminescence Byosis	ratio de l'ATP produit après 20 et 60 mn de croissance. Comparaison à un témoin sans inhibiteur  ratio of ATP produced after 20 mn and 60 mn of growth. Comparison to a control milk	60 mn à 45°C	<u>β-lactamines</u>			[9]
			benzylpénicilline	1.8	4	
Lumac rapid antibiotic test	croissance en milieu liquide avec substrat enzymatique chromogène  growth in liquid medium + chromogenic enzymatic substrate	30 mn à 41°C	ampicilline	3	4	[9]
			cloxacilline	100	30	
			<u>tétracyclines</u>			
			tétracycline HCl	40	100	
			<u>aminoglycosides</u>			
			streptomycine	3000	200***	
			<u>macrolides</u>			
			erythromycine	20	40****	
			<u>chloramphénicol</u>	500	0	
			<u>sulfonamides</u>	3000-30000	100	
			test avec <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> et <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> test with <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> and <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>			
test yaourt yoghurt inhibitor test	culture en milieu liquide. Titration acidité du milieu et comparaison avec acidité culture "yaourt " témoin  growth in liquid medium. Titration of acidity and comparison to a control culture	2-2,5 h à 45°C	<u>β-lactamines</u>			[9]
			benzylpénicilline	1.2	4	
			cloxacilline	500	30	
			<u>tétracyclines</u>			
			oxytétracycline	300	100	
			<u>aminoglycosides</u>			
			néomycine	10000	500***	
			streptomycine	1000	200***	
			<u>macrolides</u>			
			erythromycine	100	40****	
<u>chloramphénicol</u>	2000	0				

Légende des tableaux 1 à 4

keys of tables 1 to 4

\* il existe de multiples déclinaisons du kit de base / There are several variances of the test

\*\* obtenu en faisant varier le pH d'incubation selon la substance recherchée / values obtained by modifying the incubation pH, depending on the seeked drug

\*\*\* LMRs provisoires, valables jusqu'en juin 2002, règlement n° 1960/2000 du 15/9/2000 / preliminary MRLs, valid until june 2002, regulation n° 1960/2000 of 2000/9/15

\*\*\*\* règlement n° 2338/2000 du 20/10/2000, qui stipule en outre, que cette substance ne doit pas être utilisée chez les espèces produisant du lait destiné à la consommation humaine / regulation n° 2338/2000 of 2000/10/20 also stipulating that this drug should not be used in species producing milk for human consumption

tableau 4 : tests reposant sur *Micrococcus luteus* (anciennement *Sarcina lutea*)

table 4 : tests based upon the use of *Micrococcus luteus* (former *Sarcina lutea*)

nom name	principe principle	durée et température duration and temperature	spectre (partiel) spectrum (partial)	Limites de détection en µg/l Detection limit in µg/l	LMR en µg/kg, d'après [4] MRL in µg/kg, from [4]	réf.
méthode officielle FDA Official FDA method : <i>Micrococcus luteus</i> cylinder plate method	diffusion sur boîte de gélose et obtention d'une zone d'inhibition autour du cylindre contenant le lait disk assay plate method, giving a clear inhibition zone around the milk containing cylinder	16-18h à 30°C	β-lactamines pénicilline	6	4	[9]

Les tableaux montrent que spectres et sensibilités varient selon le microorganisme test.

Dans le détail, les tests basés sur *Bacillus stearothermophilus* s'avèrent particulièrement sensibles aux β-lactamines. Leur sensibilité vis à vis des tétracyclines et des sulfonamides semble davantage liée à leur conception (conditions d'incubation, présence d'additifs...) [16]. La détection de certains aminoglycosides et macrolides est plus délicate, de même que celle du chloramphénicol. En cas de suspicion, cette dernière substance, interdite d'emploi, peut toutefois être l'objet de contrôles plus sévères et plus fins, basés sur des méthodes physico-chimiques spécifiques.

Les tests utilisant *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* détectent avec une sensibilité satisfaisante les β-lactamines, les tétracyclines et les macrolides, plus difficilement les aminoglycosides, sulfamides et chloramphénicol [16].

Le test Arla, utilisant *Bacillus subtilis* est particulièrement sensible aux tétracyclines [7].

En tout cas, aucun test ne peut prétendre détecter toutes les catégories d'antibactériens avec la même sensibilité, ni respecter toutes les LMRs définies progressivement par l'UE [16]. Il semblerait même peu probable qu'un tel test existe un jour [7], [18].

## ↳ En conclusion

Les tests d'inhibiteurs microbiens sont indispensables pour pouvoir détecter d'éventuels résidus d'antibactériens dans un grand nombre d'échantillons de lait. Le choix parmi la multitude de tests disponibles dépend autant de l'aspect pratique : présence d'un kit, facilité de manipulation, que des substances recherchées *a priori* ou des performances attendues. Il faut cependant se

rappeler que malgré leur vaste spectre, aucun d'entre eux ne présente une sensibilité équivalente à toutes les familles d'antibactériens et ne peut donc respecter toutes les LMRs, variables d'une substance à l'autre, évoluant au fil des avancées de la réglementation, mais au final, toutes très faibles.

C'est pourquoi il est souhaitable de s'orienter vers des méthodes de confirmation pouvant pallier, au moins partiellement, ces défauts. De même, l'amélioration de la sensibilité des tests existants ou le développement de nouveaux tests restent d'actualité. Ils se doivent cependant d'être conformes à un cadre élaboré progressivement au sein des groupes d'experts FIL / ISO [18], normalisé depuis 1999 au niveau de la FIL, et en passe de l'être au niveau de l'ISO [11]. Cette norme donne une procédure uniforme d'évaluation et de validation, permettant notamment de pouvoir comparer les données issues d'essais et d'études différents.

Parallèlement, il est indispensable de veiller à un suivi attentif de l'évolution des pratiques thérapeutiques en médecine vétérinaire, et des pratiques en élevage pour pouvoir anticiper les probables résidus.

Remerciements à J.P. Moretain de l'AFSSA Fougères, H. Damour, directeur de Cevalait et P. Bouriot, producteur franc-comtois.

### Liste des abréviations / List of abbreviations

DJA : Dose journalière admissible / daily tolerable intake  
 FDA : Food and Drug Administration  
 FIL : Fédération Internationale de Laiterie / IDF : International Dairy Federation  
 ISO : International Standardization Organization  
 LMR : limite maximale de résidu / MRL : maximal residue limit  
 UE : Union Européenne / EU : European Union

## Bibliographie

[1] arrêté du 2 septembre 1983. Méthodes officielles d'analyses relatives à la détection des antibiotiques et des sulfamides dans les laits destinés à l'alimentation humaine ou animale. JO du 6/10/1983, p 9089-9093

[2] décision 91/180 de la Commission du 14/2/1991, arrêtant certaines méthodes d'analyse et de test du lait cru et du lait traité thermiquement. JOCE L 93 du 13/4/1991, p. 1-91

[3] règlement n° 2377/90 du Conseil du 26 juin 1990, établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale. JOCE L 224 du 18/8/1990, p. 1-8

[4] règlement n° 508/1999 de la Commission du 4 mars 1999, modifiant les annexes I à IV du règlement CEE n°2377/90. JOCE L 60 du 9/3/1999, p. 16-52

[5] règlement n° 213/2001 de la Commission du 9 janvier 2001 portant modalités d'application du règlement (CE) n°1255/1999, en ce qui concerne les méthodes à utiliser pour l'analyse et l'évaluation de la qualité du lait et des produits laitiers et modifiant les règlements (CE) n° 2771/1999 et (CE) n° 2799/1999. JOCE L 37 du 7/2/2001, p. 1-99

[6] ABETE M.C., SQUADRONE S., GENTA E. Ricerca degli antibiotici nel latte : uso di un saggio microbiologico. Latte, 1999, V. 24, N. 3, p. 74-76

[7] CARLSSON A. ; BJORCK L. The use of different microbial assays in combination with the Charm II test in the detection of antibiotic residues in herd milk. International Dairy Journal, 1992, V. 2, p. 109-119

[8] FABRE J.M. ; MORETAIN J.P. ; ASCHER F. ; BROUILLET P. ; BERTHELOT X. Main causes of inhibitors in milk. A survey in one thousand french dairy farms. In Residues of antimicrobial drugs and other inhibitors in milk. Proceedings of the symposium : Kiel, 28-31/8/1995, IDF/FIL ref SI 9505, p. 27-31.

[9] FIL-IDF (Ed.). Detection and confirmation of inhibitors in milk and milk products. Bulletin de la FIL, 1991, n° 258, 99 pages.

[10] FIL-IDF (Ed.). Residues of antimicrobial drugs and other inhibitors in milk. Proceedings of the symposium : Kiel, 28-31/8/1995. Bruxelles : FIL-IDF, 1995, ref SI 9505, 343 pages.

[11] FIL-IDF : norme internationale 183 :1999 (provisoire) : Guide pour l'évaluation normalisée des tests d'inhibiteur microbien, 6 pages.

[12] HEESCHEN W.H. Residues of antibiotics and sulfonamides in milk : significance and toxicological evaluation, legal situation within the European Community (EEC), and method-related activities of the International Dairy Federation (IDF). Bulletin of the IDF, 1993, N. 283, p. 3-12

[13] MAYRA -MAKINEN A. The Valio T101 method (T101 test). Bulletin of the IDF, 1993, N. 283, p. 29-31

[14] MULLER F.J. ; JONES A. BR-test and BRT-AS methods. Bulletin of the IDF, 1993, N. 283, p. 24-28

[15] PACKAM W. ; BROOME M.C. ; LIMSOWTIN G.K.Y. ; ROGINSKI H. Limitations of standard antibiotic screening assays when applied to milk for cheesemaking. Australian Journal of Dairy Technology, 2001, V. 56, N. 1, p. 15-18

[16] REYBROECK W. Evaluation of screening tests for the detection of antimicrobial residues in milk. In Residues of antimicrobial drugs and other inhibitors in milk. Proceedings of the symposium : Kiel, 28-31/8/1995, IDF/FIL ref SI 9505, p. 182-186.

[17] SUHREN G. Experiences with an IDF-experimental study for the detection of penicillin and tetracycline applying routinely used methods. Bulletin of the IDF, 1993, N. 283, p. 15-19

[18] SUHREN G. Possibilities and limitations of microbiological inhibitor tests. In Residues of antimicrobial drugs and other inhibitors in milk. Proceedings of the symposium : Kiel, 28-31/8/1995, IDF/FIL ref SI 9505, p. 159-171.

## Validations AFNOR

**A** FNOR Certification nous a fourni sa dernière liste de méthodes alternatives d'analyses validées, en date du 14 juin 2001.

### 🔗 NOUVELLES VALIDATIONS

Trois méthodes ont été nouvellement validées. Il s'agit de :

▪ **TRANSIA PLATE *Salmonella Gold***, de la société Diffchamb, validé le 23 mars 2001 (*n° d'attestation : TRA 02/8 – 03/01*), un test immunoenzymatique pour la détection de *Salmonella* dans tous les produits d'alimentation humaine et animale.

▪ **β S.T.A.R.**, de la société UCB Bioproducts (Belgique), distribué en France par la société Chr. Hansen, validé également le 23 mars 2001 (*n° d'attestation : UCB-11/3 – 03/01*), un test de détection des résidus de β-lactamines dans le lait cru, stérilisé et en poudre, basé sur l'utilisation de bio-récepteurs.

▪ **PETRIFILM SELECT'E. COLI**, de la société 3M, validé le 14 juin 2001 (*n° d'attestation : 3M-01/8 – 06/01*), un Petrifilm pour le

dénombrement rapide d'*Escherichia coli*, dans tous les produits d'alimentation humaine.

Rappelons que les validations sont accordées pour 4 années, à l'issue desquelles, si les fabricant et/ou distributeur le souhaitent, il faut entamer les procédures et études en vue de la reconduction de la validation.

Les textes des attestations de validation correspondantes sont encore sous presse. Nous vous fournirons des informations plus détaillées dès leur parution.

### 🔗 RECONDUCTIONS DE VALIDATIONS

Trois validations de méthodes ont été reconduites pour une période de 4 ans. Il s'agit :

▪ de **PROBELIA *Salmonella sp.***, un test PCR pour la détection des salmonelles (*n° d'attestation SDP-07/2-06/96*), de la société Bio-Rad,

▪ des **DYNABEADS anti *E. coli* O157**, un test immunologique pour la détection de *E. coli* O157 (*n° d'attestation DYN-16/2-06/96*), de la société DYNAL ;

validés tous deux, jusqu'au 27 juin 2004

▪ du **Kit Tecra**, test immunoenzymatique de détection des salmonelles (*n° d'attestation 3M-01/3-07/92*), de la société Tecra, distribué par Mr. JRADE, validé jusqu'au 22 janvier 2005.

## 🔗 PROLONGATIONS DE VALIDATIONS

Dans l'attente de l'examen de leur dossier, la validation des méthodes suivantes a été prolongée de quelques mois :

▪ **Dynabeads anti *Salmonella*** (*n°s d'attestation : DYN-16/1 – 06/96*), prolongée jusqu'au 10 octobre 2001.

▪ différents **Petrifilm P2000** de numération rapide des coliformes, prolongée jusqu'au 30 septembre 2001, à savoir :

- ♦ lecture à 14 h (*n° d'attestation 3M-01/5-03/97*),
- ♦ lecture à 24 h des colonies gazogènes et non gazogènes (*n° d'attestation 3M-01/5-03/97B*),
- ♦ lecture à 24 h des coliformes gazogènes (*n° d'attestation 3M-01/5-03/97C*).

▪ test **Petrifilm** pour la numération rapide de la flore totale, respectivement des *Enterobacteriaceae* (*n° d'attestations respectifs 3M-01/1-09/89 et 3M-01/6-09/97*), prolongée jusqu'au 10 octobre 2001.

▪ test **Petrifilm *E. coli* et coliformes**, pour la numération rapide des *E. coli*  $\beta$ -glucuronidase positifs (*n° d'attestation 3M-01/4-09/92*), prolongée jusqu'au 31 décembre 2001.

## Nouveautés dans la réglementation

### FRANCE

**Arrêté du 22 février 2001, relatif au retrait de la consommation humaine des denrées alimentaires d'origine animale contaminées par des résidus de pesticides** (JO France du 30/3/2001). Ce texte est la transposition en droit français de la directive 2000/58 du 22/9/2000 (krésoxym méthyl...) que nous avons signalée précédemment.

**Arrêté du 2 mai 2001, modifiant l'arrêté du 2/10/1997 modifié, relatif aux additifs pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine** (JO France du 17/6/2001). Ce texte est la transposition en droit français de la directive 2000/63 du 26/7/2000 qui concernait les critères de pureté des additifs autres que les colorants et édulcorants (modification de la fiche concernant le E320-butylhydroxyanisole et ajout de fiches pour plusieurs dizaines d'additifs).

**Décret n°2001-387 du 3 mai 2001, relatif au contrôle des instruments de mesure** (JO France du 6/5/2001).

Ce texte s'applique notamment aux instruments de pesage, aux mesures matérialisées de capacités, aux cuves de refroidisseurs de lait en vrac, aux thermomètres utilisés par les agents de l'Etat pour le contrôle de la température ou pour des expertises sur les denrées périssables...etc... quand ils sont utilisés dans le cadre de transactions commerciales, de mesurages pour la détermination ou la vérification de caractéristiques annoncées, de mesurages en rapport avec la santé ou la sécurité des personnes ou des animaux...Il décrit les modalités de quatre opérations de contrôle : l'examen de type, la vérification primitive, la vérification de l'installation et le contrôle en service. Chacune des catégories d'instruments visées par ce décret peut être soumise à une ou plusieurs de ces opérations, selon les prescriptions d'un arrêté ministériel spécifique, qui définira en outre, ses caractéristiques et ses conditions d'exactitude.

*Les lois, arrêtés, décrets et circulaires sont consultables sur <http://www.legifrance.gouv.fr>.*

➤ à signaler également la parution de

**Arrêté du 3 avril 2001, portant extension d'un accord interprofessionnel sur le paiement du lait de chèvre** selon sa qualité conclu entre les organisations professionnelles constituant l'Association Nationale interprofessionnelle caprine (JO France du 22/4/2001)..

*Ses dispositions sont données dans une annexe consultable au Ministère de l'Agriculture (Bureau du Lait et des Industries Laitières) ou à ANICAP (Association nationale interprofessionnelle caprine à la Maison du Lait.*

**Arrêté du 11 avril 2001** modifiant l'arrêté du 6 juillet 1990 fixant les mesures financières relatives à la lutte contre la brucellose bovine et à la lutte contre la tuberculose bovine et caprine (JO France du 13/4/2001)

**Arrêté du 20 juin 2001, relatif aux bonnes pratiques de laboratoire pour les médicaments vétérinaires** (JO France du 4/7/2001)..

*L'arrêté et son annexe seront publiés par Bulletin Officiel spécial du Ministère de l'Emploi et de la Solidarité et mis en vente auprès de la Direction des Journaux Officiels. A suivre sur Legifrance...*

**LOUIS G.** (rapporteur) Les signes officiels d'identification de la qualité et de l'origine des produits agricoles et alimentaires. Conseil économique et social, mars 2001, réf. : 411010004, 260 pages.

*mis en vente auprès de la Direction des Journaux Officiels, 26, rue Desaix, 75009 PARIS*

## EUROPE COMMUNAUTAIRE

Directive 2001/18/CE du Parlement Européen et du Conseil du 12 mars 2001 relative à la dissémination volontaire **d'organismes génétiquement modifiés** dans l'environnement et abrogeant la directive 90/220/CEE du Conseil (JOCE L 106 du 17/4/2001). Il s'agit d'une refonte –en 39 pages- de l'ensemble des dispositions à respecter : procédures d'autorisations, précautions, procédures d'évaluation, d'information, de consultation de Comités d'Ethique....

Directive 2001/39/CE de la Commission du 23 mai 2001 modifiant les annexes des directives.....86/363/CEE concernant la fixation de teneurs maximales **pour les résidus de pesticides** sur et dans ....les denrées alimentaires d'origine animale.... (JOCE L 148 du 1/6/2001)  
Ce texte complète la liste des teneurs maximales de résidus de pesticides autorisées dans le lait cru avec la prohexadione : 0,01 mg/kg.

Règlements 749/2001 et 750/2001 du 18 avril 2001, 807/2001 du 25 avril 2001, 1274/2001 du 27 juin 2001 et 1322/2001 du 29 juin 2001 modifiant les annexes 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 (respectivement JOCE L109 du 19/4/2001, L118 du 27/4/2001, L175 du 28/6/2001, L177 du 30/6/2001).  
Le texte 1274/2001 modifie l'annexe I, les textes 749 et 750/2001 l'annexe II, le texte 807/2001 (rectifié le 16 mai 2001 au JOCE L 133) les annexes I, II et III le texte 1322/2001 les annexes I et III.

Au total ont ainsi été rajoutées :

- à la liste des LMRs de l'annexe I :
  - les antibiotiques nafcilline : 30 µg/kg de lait, céfopérazone : 50µg/kg, lincomycine : 150 µg/kg ; les antiparasitaires : nétibimimine : 100 µg/kg, cyhalothrine : 50µg/kg et cyfluthrine : 20µg/kg.

- à la liste des substances non soumises à LMR de l'annexe II :
  - le thiopental sodique et le thiamylal, des dérivés de l'acide acétylsalicylique –**sauf pour les animaux produisant du lait destiné à la consommation humaine**-, certains acides alkyl benzène sulfoniques linéaires.
- à la liste des LMR provisoires de l'annexe III :
  - les antibiotiques céfaccétrile : 125µg/kg de lait et céfalonium : 10µg/kg, les antiparasitaires : perméthrine : 50µg/kg, morantel : 100µg/kg.

➤ à signaler également la parution de

Directive 2001/30/CE de la Commission du 2 mai 2001 modifiant la directive 96/77/CE établissant des critères de pureté spécifiques pour les **additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants** (JOCE L 146 du 31/5/2001)

Directive 2001/50/CE de la Commission du 3 juillet 2001 modifiant la directive 95/45/CE établissant des critères de pureté spécifiques pour les **colorants** pouvant être utilisés dans les denrées alimentaires (JOCE L 190 du 12/7/2001)

Directive 2001/52/CE de la Commission du 3 juillet 2001 modifiant la directive 95/31/CE établissant des critères de pureté spécifiques pour les **édulcorants** pouvant être utilisés dans les denrées alimentaires (JOCE L 190 du 12/7/2001)

*Les Journaux Officiels de l'Union Européenne des 45 derniers jours sont consultables sur <http://europa.eu.int/eur-lex/fr/obj>  
Les textes plus anciens peuvent être consultés selon un classement thématique sur <http://europa.eu.int/eur-lex/fr/lif> ou commandés sur <http://www.eudor.com>*

## Du côté de la biblio

**V**ous trouverez ci-joint la liste complète des références repérées pour notre base de données sur les techniques analytiques laitières au cours du dernier trimestre.

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

### ➤ A signaler également la parution

- **FSA (ed)** A Review of the Evidence for a Link between Exposure to *Mycobacterium paratuberculosis* (MAP) and Crohn's Disease (CD) in Humans, juin 2001, 70 pages consultable sur [www.foodstandards.gov.uk/committees/acmsf/map\\_crohn\\_report.pdf](http://www.foodstandards.gov.uk/committees/acmsf/map_crohn_report.pdf)

- également consacré à *Mycobacterium paratuberculosis*, la totalité du bulletin FIL n° 362, 2001, 28 pages.
- **FEINBERG M.** L'Assurance Qualité dans les laboratoires agroalimentaires et pharmaceutiques. 2001, 2<sup>e</sup> édition. Editions Lavoisier Tec. & Doc, 355 pages
- Compte-rendu de la Journée ASEPT d'informations, d'échanges et de discussions, "La maîtrise de *Listeria* dans les entreprises alimentaires par l'exemple", du 27 mars 2001 à Laval. Disponible sur le site de l'ASEPT dans le dossier *Listeria* : <http://www.asept.fr/Lm.htm>
- Le n° 359, 2001, du bulletin FIL est un rapport (de H. H. SORENSEN) consacré au marché mondial du fromage pendant la

décennie 1990-1999 : *The World Market for cheese 1990-99 (5<sup>th</sup> edition)*, 62 pages.

• Le bulletin FIL n° 360, 2001 est une monographie, consacrée aux changements structurels dans le secteur laitier, à travers le monde : *Structural change in the dairy sector*, 71 pages.

• Le bulletin FIL n° 361, 2001 est également une monographie, de P. MIKKELSEN s'intéressant à l'industrie laitière dans le monde : *the global dairy industry today*, 50 pages.

## **Normes et projets de normes parus récemment (reçus entre Mars et Juillet 2001)**

### **NORMES FRANCAISES ET INTERNATIONALES**

**Amendement 1 à NF ISO 7218 (V 08-002), avril 2001) :** (ICS : 07.100.30 : *microbiologie alimentaire*) MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Règles générales pour les examens microbiologiques.

Les parties modifiées dans l'amendement sont les paragraphes consacrés au comptage des colonies et à l'expression des résultats. Ce dernier surtout est considérablement rallongé par l'adjonction d'exemples de calcul dans le cas général, par des précisions et exemples supplémentaires pour les estimations des petits nombres et par l'insertion d'un nouveau sous-paragraphe consacré au mode de calcul dans tous les cas particuliers.

### **PROJETS DE NORMES**

#### **➤ PROJETS AFNOR / ISO**

**NF ISO 15884 (V 04-021) MATIERES GRASSES DU LAIT :** Préparation des esters méthyliques d'acides gras.

**NF EN ISO 13969 (V 04-022) LAIT ET PRODUITS LAITIERS**  
Lignes directrices pour une description normalisée des essais d'inhibiteurs microbiens.

**NF ISO/DIS 15885 (V 04-025) MATIERES GRASSES DU LAIT :** Détermination de la composition des acides gras par chromatographie en phases gazeuse et liquide.

**NF EN ISO 3727-3 (V 04-392-3) BEURRE :** Détermination de la teneur en eau, en matière sèche non grasse et en matière grasse – Partie 3/FIL 80-3 : détermination de la teneur en matière grasse (méthode de routine).

**NF ISO 11843-3 (X 06-048-3) CAPACITE DE DETECTION –**  
Partie 3 : méthodologie pour déterminer la valeur critique d'une variable de réponse lorsqu'aucun étalonnage n'est utilisé.

#### **➤ PROJETS AFNOR**

**V 04-155 LAIT SEC ET PRODUITS LAITIERS SECS**  
Détermination de la teneur en matière grasse. Méthode acido-butyrométrique

**V 04-364 POUDRES DE LAIT INSTANTANÉES :** Détermination de la dispersabilité et de la mouillabilité.

**V 04-368 LAIT CONCENTRE SUCRE :** Détermination de la matière sèche.

#### **➤ PROJETS ISO**

**ISO / DIS 18330 MILK AND MILK PRODUCTS :** Guidelines for a standardized description of preliminary confirmation tests for the detection of antimicrobial residues.

#### **➤ à signaler également**

##### **↳ la parution de**

▪ projet NF EN ISO 4142 VERRERIE DE LABORATOIRE. Tubes à essais

▪ catalogue des normes AFNOR 2001

▪ du recueil **Qualité et systèmes de management ISO 9000**, qui fait la comparaison entre les versions 1994 et 2000 des normes ISO 9000.

##### **↳ l'accès Internet à**

▪ toutes les normes du **CODEX ALIMENTARIUS** en français sur [http://www.codexalimentarius.net/STANDARD/Volum\\_F.html](http://www.codexalimentarius.net/STANDARD/Volum_F.html)

▪ **Bacteriological Analytical Manual (BAM)**, recueil des méthodes recommandées par la FDA (*Food and Drug Administration*) pour l'analyse microbiologique des aliments et des cosmétiques. A consulter sur <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>

## RENDEZ-VOUS / FORTHCOMING EVENTS

### ➤ RAPPELS / REMINDER

### RENSEIGNEMENTS / CONTACT

28 octobre – 1 novembre 2001  
**28 October – 1st November 2001**  
AUCKLAND, NOUVELLE ZELANDE  
**NEW ZEALAND**  
World Dairy Summit

FIL- IDF Secretariat  
41, square Vergote  
B-1030 BRUSSELS  
BELGIUM

Tel : 32/2.733.1690  
Fax : 32/2.733.04.13  
e-mail : [info@fil-idf.org](mailto:info@fil-idf.org)  
[www.idf-wds2001.org](http://www.idf-wds2001.org)

### ➤ AUTRES MANIFESTATIONS / OTHER EVENTS

5 – 7 août 2001  
**5– 7 August 2001**  
MINNEAPOLIS, USA  
88<sup>e</sup> rencontres annuelles de l'IAFP  
IAFP 88<sup>th</sup> Annual meeting  
(*International Association for Food Protection*)

IAFP  
6200 Aurora Avenue  
Suite 200W  
DES MOINES  
IA 50322-2863  
USA

Tel : +1/800 369 6337/ 515 276 33440  
Fax : +1/515.276.8655  
e-mail : [info@foodprotection.org](mailto:info@foodprotection.org)  
<http://www.foodprotection.org>

15 - 17 Octobre 2001  
**15 - 17 October 2001**  
VALENCE (ESPAGNE)  
VALENCIA (SPAIN)  
11<sup>e</sup> Conférence annuelle de EHEDG  
EHEDG 11<sup>th</sup> annual conference  
Food in Europe : Building in Safety  
(*European Hygienic Equipment Design Group*)

<http://www.ainia.es/safetycongress/programa.htm>

16-18 Octobre 2001  
**16 – 18 October 2001**  
RENNES (FRANCE)  
1<sup>er</sup> Symposium International de Séchage par  
Atomisation de Produits Laitiers  
1<sup>st</sup> International Symposium on spray drying  
of dairy products

SYMPO 2001  
LRTL – INRA  
65, rue de Saint-Brieuc  
35042 RENNES  
FRANCE

Tel : +33(0)2 23 48 53 22  
fax : +33(0)2 23 48 52 50  
e-mail : [sympo2001@rennes.inra.fr](mailto:sympo2001@rennes.inra.fr)  
<http://www.rennes.inra.fr/spray>

22-25 Octobre 2001  
**22 – 25 October 2001**  
SAINT LOUIS (FRANCE)  
10<sup>e</sup> Congrès International de métrologie  
10<sup>th</sup> International metrology congress

Secrétariat Général  
Métrologie 2001  
Maison de l'Entreprise  
429, rue de l'industrie  
CS 70003  
34078 MONTPELLIER CEDEX 3  
FRANCE

Tel : +33(0)4 67 06 20 36  
fax : +33(0)4 67 06 20 35  
e-mail : [sandrine.gazal@wanadoo.fr](mailto:sandrine.gazal@wanadoo.fr)

14-16 novembre 2001  
**14-16 november 2001**  
BORDEAUX (FRANCE)  
11<sup>e</sup> réunion du club des bactéries lactiques

Faculté d'œnologie  
Université Victor Segalen  
Bordeaux 2  
351, cours de la libération  
33405 TALENCE CEDEX  
FRANCE

Tél : +33 (0)5 56 84 64 58  
Fax : +33 (0)5 56 84 64 68  
e-mail : [cbl2001@œnologie.u-bordeaux2.fr](mailto:cbl2001@œnologie.u-bordeaux2.fr)  
<http://www.u-bordeaux2fr/œnologie/cbl2001.html>

15-16 novembre 2001  
**15-16 november 2001**  
LILLE (FRANCE)  
Conférence : sécurité sanitaire des aliments :  
quels enjeux pour l'entreprise ?

Virginie BOUDAS  
Institut Pasteur de Lille  
1 rue du Prof. Calmette  
BP 245  
59019 Lille cedex  
FRANCE

Tél : +33 (0)3 20 87 79 02  
Fax : +33 (0)3 20 87 72 58  
e-mail : [Virginie.Boudas@Pasteur-Lille.fr](mailto:Virginie.Boudas@Pasteur-Lille.fr)  
<http://www.pasteurmed.com/events>

15-16 novembre 2001

**15-16 novembre 2001**

PARIS (FRANCE)

Journées techniques ASFILAB : sécurité  
alimentaire : nouvelles approches analytiques

**ASFILAB**

191, avenue Aristide Briand  
94237CACHAN CEDEX  
FRANCE

Tel : +33 (0)1 41 24 88 09

Fax : +33 (0)1 41 24 87 99

e-mail : [christine\\_chambelland@sgsgroup.com](mailto:christine_chambelland@sgsgroup.com)

[www.asfilab.org](http://www.asfilab.org)

28-30 novembre 2001

**28-30 novembre 2001**

NANTES (FRANCE)

6<sup>e</sup> symposium international sur l'authenticité et  
la sécurité des produits alimentaires

6<sup>th</sup> Food authenticity and safety international  
symposium

**Sabine Noster-Vallée**

Tel : +33 (0)2 51 83 21 08

Fax : +33 (0)2 51 83 21 11

e-mail : [SabineNosterVallee@eurofins.com](mailto:SabineNosterVallee@eurofins.com)

[www.eurofins-fasis.com](http://www.eurofins-fasis.com)

La Lettre de CECALAIT est éditée par CECALAIT, BP 89, 39801 POLIGNY CEDEX  
CECALAIT : association. Président : Laurent DEVELET ; Vice-Président : Michel PLACE;  
Trésorier : Jean SEEGERS ; Secrétaire : Yolande NOEL ; Directeur : Hugues DAMOUR  
Directeur de la publication : Laurent DEVELET  
Responsable de la rédaction : Annette BAPTISTE  
Impression : CECALAIT, BP 89, 39801 POLIGNY CEDEX  
2<sup>e</sup> trimestre 2001  
Dépôt légal : à parution  
ISSN : en cours