

2001

3^e trimestre

N°38

LA LETTRE DE CECALAIT

CECALAIT BP 129 39802 Poligny Cedex TEL : 03.84.73.63.20 TELECOPIE : 03.84.73.63.29
E-mail : bapt@poligny.inra.fr ou trossat@poligny.inra.fr

Rédaction achevée le 19 octobre 2001

rédaction : A. BAPTISTE

Relecture par : M. BOHNERT, F. HUMBERT, P. ROLLIER, Ph. TROSSAT

SOMMAIRE

Evaluation de la méthode ISO 6579 de détection de *Salmonella spp.*

Nouveautés dans la réglementation

Du côté de la biblio...

Validations AFNOR

Normes et projets de normes parus récemment

Brèves...

Rendez-vous

Evaluation de la méthode ISO 6579 de détection de *Salmonella* spp.

(Sur la base de l'intervention de Mme BOHNERT – AFSSA -
lors de l'Assemblée générale 2001 de CECALAIT)

La méthode décrite dans le projet de norme ISO 6579 (2000) de recherche de *Salmonella* spp. dans les aliments a été évaluée, dans le cadre d'un programme européen destiné à établir, au moyen d'études collaboratives, les performances de fidélité des méthodes ISO de détection et/ou dénombrement de microorganismes pathogènes dans les aliments. En outre, dans le but d'arriver à la validation de cette méthode auprès des autorités américaines, elle a été comparée aux deux méthodes utilisées par l'AOAC International, pour, respectivement, les aliments fortement contaminés et faiblement contaminés, à savoir, AOACI OMA 995.20 et AOACI OMA 2000.06.

Ces méthodes ont été trouvées globalement satisfaisantes, avec des performances de fidélité équivalentes quel que soit l'aliment testé, la détection de *S. Typhi* et *Paratyphi* pouvant toutefois se révéler délicate. A l'issue de ces travaux, il a été recommandé de reconnaître la méthode ISO aux Etats-Unis et d'inclure en annexe de la future norme ISO les valeurs de fidélité obtenues au cours de cette étude.

En 1996, la Commission Européenne lançait un projet, destiné à évaluer la fidélité de six méthodes microbiologiques horizontales ISO, portant sur la détection et / ou le dénombrement de microorganismes pathogènes dans les aliments. Des données de fidélité, établies par une étude collaborative, conformément à la norme ISO 5725, sont en effet, un préalable indispensable avant l'adoption d'une méthode normalisée en tant que norme Européenne par le CEN (Comité Européen de Normalisation). Elles ont d'ores et déjà été obtenues pour *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* (recherche et dénombrement), *Staphylococcus* à coagulase positive et *Clostridium perfringens* (cf Lettres de CECALAIT n° 26, 30, 35 et 36). L'ultime étape avant l'achèvement du projet était l'évaluation de la méthode de recherche de *Salmonella* spp.

Or celle-ci est décrite dans la norme ISO 6579, dont la dernière édition datait de 1993 et qui fait l'objet d'une procédure de révision depuis 1997. Il semblait logique d'attendre que cette procédure ait avancé significativement, afin d'évaluer de préférence, la méthode destinée à être appliquée dans les années à venir. C'est pourquoi la méthode de détection de *Salmonella* spp. a été évaluée en dernier, en suivant le protocole expérimental décrit dans le projet EN ISO 6579, paru en 2000. Les programmes de validation précédents avaient impliqué une vingtaine de laboratoires internationaux, au sein de l'Union Européenne. Cette fois-ci, le projet a encore pris plus d'ampleur, avec la participation d'experts américains de l'AOAC International. Ce, dans le but de constituer auprès de cet organisme un dossier de validation de la méthode ISO 6579 afin qu'elle soit reconnue aux Etats-Unis et puisse, en conséquence, être autorisée dans les contrôles à l'exportation vers les Etats-Unis, à la place de la méthode AOAC. La procédure s'en est évidemment trouvée alourdie puisqu'elle impliquait la comparaison des deux méthodes.

Comme précédemment, les coordinateur et partenaires du programme restent :

- coordinateur de l'ensemble du projet : AFSSA (Mme LAHELLEC)
- partenaires : le RIVM aux Pays-Bas et le MAFF-CSL au Royaume Uni

A tour de rôle, chacun de ces trois laboratoires a été responsable d'un volet du projet. L'étude sur *Salmonella* spp. a ainsi été conduite par l'AFSSA (unité de Ploufragan) en Europe ; un laboratoire américain (BioControl Systems) supervisant l'étude aux Etats-Unis.

Parmi les sous-contractants de ce programme, CECALAIT a assuré la préparation, la mise au point, la définition des paramètres de conservation et l'expédition des échantillons de fromage.

1) *SALMONELLA* : GENERALITES ET REGLEMENTATION

↳ GENERALITES

Il s'agit de germes incriminés dans de très nombreuses toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), plus de 40 000 cas annuels aux Etats-Unis, dont la fréquence semble de plus en plus augmenter de façon notable, principalement aux Etats-Unis, mais aussi dans les autres pays développés.

Dans l'environnement, de nombreuses espèces de salmonelles sont naturellement présentes chez les poulets, dindes, canards, rongeurs, chats. On les trouve aussi dans l'eau, le sol, mais également sur les surfaces industrielles ou de cuisines. Les aliments les plus fréquemment incriminés dans les infections sont des viandes hachées, de la charcuterie, de la volaille, des rôtis de boeuf préparés à l'avance et des oeufs (ovoproduits, crème pâtissière, mayonnaise, crème glacée), du poisson et des coquillages. Les statistiques de l'IVS concernant les TIAC de ces dernières années en France montrent que le lait et les produits laitiers sont plus rarement en cause. Cependant, l'actualité récente, de même que l'historique global des TIAC, en France et à travers le monde, montrent qu'ils sont également concernés. De façon générale, le nombre de salmonelloses s'accroît pendant les mois d'été, simplement parce que ces germes se développent facilement et rapidement dans les aliments non réfrigérés (ex. pique-niques).

Les *Salmonella* sont des bâtonnets Gram négatif, mobiles (à l'exception d'un sérovar : Gallinarum-Pullorum plus spécialement pathogène des oiseaux), aéro-anaérobies facultatifs, non-sporulés. Leur température optimale de croissance est de 35/37°C ; elles

peuvent cependant se multiplier à des températures allant de 5°C jusqu'aux alentours de 45/47°C pour certaines, bien que leur croissance soit nettement retardée par les températures inférieures à 10°C. La congélation ne garantit pas leur disparition complète. Elles sont en revanche détruites par la pasteurisation.

Au point de vue pH, elles supportent généralement une gamme de pH allant de 4,5 à 9,0 avec un optimum de 6,5 à 7,5 mais la persistance de certaines souches dans des environnements fortement acides a déjà été signalée. Elles sont, en outre, capables de survivre très longtemps dans des aliments déshydratés. Enfin, on a signalé l'existence d'au moins une souche résistante à plusieurs antibiotiques de nature différente.

Les salmonelles sont toutes potentiellement pathogènes pour l'espèce humaine ou tous les animaux. *Salmonella* Typhi et Paratyphi, même ingérés à faible dose, sont responsables des fièvres typhoïde ou paratyphoïde dans l'espèce humaine (taux de mortalité : 10%). Les autres formes, moins graves, de salmonelloses nécessitent généralement l'ingestion d'un nombre élevé de microorganismes. Puis la multiplication des germes dans le tube digestif produit des symptômes en 6 à 48h. Il s'agit de douleurs abdominales souvent violentes, de vomissements fréquents, douloureux et violents, accompagnés de diarrhées, nausées, céphalées, fièvre, frissons, abattement... qui durent de 1 à 7 jours. La guérison est généralement sans complication, mais la FDA recense environ 2 cas de mortalité pour 1000 contaminations. Les sujets les plus sévèrement atteints sont en général, les personnes âgées, les très jeunes enfants, les personnes immunodéprimées.

↳ REGLEMENTATION

Les réglementations française et communautaire imposent l'absence de *Salmonella* pour la quasi totalité des aliments. C'est notamment le cas pour les laits, lait en poudre, fromages, beurres, produits liquides à base de lait, lors de leur mise sur le marché. Dans le détail, la directive 92/46* communautaire spécifie « absence dans 25g pour le lait cru destiné à la consommation humaine directe, dans 1g pour les autres produits ** ». Initialement reprises dans la réglementation française (AM du 30/4/1994), ces **spécifications ont été modifiées** par une note de service de la DGAI (n°2686 du 24/10/1996 ***) qui fixe « **absence dans 25g** » pour l'ensemble des produits laitiers.

* citée dans DG 24, «*aperçu des critères microbiologiques pour les denrées alimentaires dans la législation communautaire en vigueur, 20/09/2001*

** in directive 94/71 du 13/12/1994 modifiant la directive 92/46

*** citée dans la Note de service n°2001-8090 du 27/06/2001

2) METHODES DE DETECTION

↳ EN 12824 DE 1998

C'est **actuellement** la méthode horizontale de référence en France et dans l'Union Européenne pour la recherche des *Salmonella* spp. Elle se base sur la norme ISO 6579 :1993, notamment en imposant :

- l'utilisation des milieux sélectifs liquides suivants : bouillon de Rappaport-Vassiliadis vert malachite chlorure de magnésium et bouillon au sélénite-cystine, pour la phase d'enrichissement,
- l'utilisation de la gélose au rouge de phénol et au vert brillant (milieu d'Edel et Kampelmacher) et d'une autre gélose au choix, pour la phase d'isolement.

Elle s'en distingue cependant en introduisant quelques modalités spécifiques de pré-enrichissement pour certains produits alimentaires et en laissant la possibilité de 24h supplémentaires d'incubation dans le milieu de Rappaport-Vassiliadis.

↳ PROJET ISO 6579, JUIN 2000

C'est la méthode décrite dans ce projet qui a été évaluée dans le cadre de cette étude. Elle diffère très nettement des méthodes décrites dans la version 1993 de la norme et dans la norme EN 12824. Les différences portent notamment sur :

- les deux milieux sélectifs liquides pour l'enrichissement : pour le premier, bouillon de Rappaport-Vassiliadis, c'est la formulation contenant de la peptone de soja qui est désormais retenue (RVS) ; le deuxième milieu, bouillon au sélénite-cystine, jugé trop toxique pour l'environnement, est remplacé par le bouillon Mueller-Kaufmann au tétrathionate-novobiocine (MKTTn)
- les deux milieux sélectifs solides pour l'isolement : comme avant, l'un est obligatoire, l'autre est laissé au libre choix du laboratoire. Mais, la gélose au rouge de phénol et au vert brillant autrefois obligatoire est maintenant remplacée par la gélose xylose lysine désoxycholate (XLD). Quant au deuxième milieu, laissé au choix, il doit permettre la recherche des *Salmonella* lactose positive, ainsi que celle de *S. Typhi* et *S. Paratyphi*, deux points qui n'étaient pas expressément spécifiés autrefois.

En revanche, les étapes de confirmation biochimique et sérologique restent identiques dans leur principe, mais seraient allégées au point de vue pratique.

La procédure décrite dans le projet de norme ISO 6579 se décompose schématiquement en quatre phases successives.

- phase de pré-enrichissement à partir de la prise d'essai ensemencée dans de l'eau peptonnée tamponnée, puis incubée 16 à 20 h à 37°C.
- phase d'enrichissement en milieux sélectifs liquides : avec la culture obtenue après pré-enrichissement, ensemencement de :
 - de 10 ml d'un bouillon RVS, avec 0,1 ml, puis incubation 24h ± 3h à 41,5 ± 1°C
 - &
 - de 10 ml d'un bouillon MKTTn, avec 1 ml, puis incubation 24h ± 3h à 37°C ± 1°C

NB 1 : la température de 41,5°C doit permettre d'inhiber les flores annexes trop abondantes, tout en ne dépassant pas la limite de 43°C, susceptible d'inhiber la plupart des salmonelles

NB : le milieu MKTTn est réputé permettre la croissance de S. Typhi et S. Paratyphi.

- phase d'isolement en milieux sélectifs solides : à partir de chacune des cultures d'enrichissement, ensemencement de :

- milieu XLD

&

- « d'un autre milieu sélectif solide approprié, laissé au choix du laboratoire, complémentaire du milieu XLD, permettant la recherche de *Salmonella* lactose positive, ainsi que celle de *S. Typhi* et *S. Paratyphi* » (in projet de norme ISO 6579)^o

puis incubation 24h ± 3h à 37°C ± 1°C

- phase de confirmation : à partir d'une colonie caractéristique provenant de chacun des milieux d'isolement, :

- tests biochimiques sur :

- ♦ gélose au citrate de fer et aux trois sucres (TSI),
- ♦ gélose à l'urée,
- ♦ milieu pour la décarboxylation de la L-lysine,
- ♦ milieu pour la recherche de la β-galactosidase,
- ♦ milieu pour la réaction de Voges-Proskauer,
- ♦ milieu pour la recherche de l'indole

&

- tests sérologiques

Si la première colonie testée est négative après les tests biochimiques, l'ensemble des tests de confirmation est pratiqué sur 4 autres colonies caractéristiques provenant de chacun des milieux d'isolement.

Des tableaux d'aide à l'interprétation des résultats biochimiques et sérologiques permettent ensuite de décider quelles colonies peuvent être considérées comme étant des *Salmonella*.

Dans ce projet de norme, à nouveau examiné en réunion du Comité permanent *ad hoc* (SC9) de l'ISO en juin 2001 à Berne, certains points ont été et restent discutés.

La suppression de l'enrichissement dans le bouillon au sélénite-cystine est ainsi fortement contestée. L'étendue des tests de confirmation est également sujette à discussion : est-il envisageable de s'arrêter après les tests biochimiques en se dispensant totalement ou partiellement du sérotypage ? De même, la proposition de ne confirmer que le seul antigène O, reste également discutée, car ne convenant pas forcément à tous les pays. Enfin, l'utilisation obligatoire de la gélose XLD ainsi que le remplacement du bouillon sélénite-cystine par le bouillon MKTTn sont des sujets de controverse, notamment de la part de la FIL.

D'autres difficultés, concernant la composition des milieux, sont apparues par ailleurs, notamment en examinant les données de cette étude. Ainsi, la composition du milieu MKTTn n'est pas clairement définie pour l'heure, puisqu'actuellement les fournisseurs en proposent 4 formulations différentes. De même, pour le milieu RVS, initialement décrit dans un article paru en 1987 (cf bibliographie), préparé à partir de trois solutions différentes, de grandes précautions s'imposent, surtout pour la préparation de la

solution de chlorure de magnésium, pour arriver à respecter les concentrations spécifiées ; c'est ainsi que la formulation indiquée ne semble pas être respectée par tous les fabricants.

↳ METHODE AOAC

Pour les aliments fortement contaminés, il s'agit de la méthode AOACI OMA 995.20, proposée en 1995 (**first action**) pour la détection de *Salmonella* dans les aliments crus, fortement contaminés et les aliments à base de volaille. Elle a été définitivement acceptée en 1999 (**final action**). La révision de son protocole, pour la prise en compte des aliments peu contaminés, a abouti à la méthode AOACI OMA 2000.06 (soumise pour publication) et c'est donc cette méthode qui a été suivie, pour ce type d'aliments.

Son protocole expérimental se décompose également schématiquement en quatre phases successives.

- phase de pré-enrichissement à partir de la prise d'essai ensemencée, pour cette étude, en bouillon lactose, puis incubée 24h ± 2h à 35°C ± 2°C.

- phase d'enrichissement en milieux sélectifs liquides : avec la culture obtenue après pré-enrichissement, ensemencement de :

- milieu de Rappaport-Vassiliadis (RV), avec 0,1 ml, puis incubation 24h ± 2h à 42°C ± 0,2°C

&

- bouillon tétrathionate, avec 1 ml.

Dans ce cas, les conditions d'incubation diffèrent selon la charge microbienne présumée des aliments examinés :

- ♦ Pour ceux faiblement contaminés par une flore annexe, incubation 24h ± 2h à 35°C ± 2°C,
- ♦ pour ceux fortement contaminés (c'est le cas des échantillons de poulet dans cette étude), incubation 24h ± 2h à 43°C ± 0,2°C ,

- phase d'isolement en milieux sélectifs solides : à partir de chacune des cultures d'enrichissement, ensemencement de :

- milieu XLD et gélose Hektoen entérique (HE), tous deux incubés 24h ± 2h à 35°C ± 2°C

&

- milieu bismuth sulfite (BS), incubé 24h ± 2h, examiné, puis incubé pour 24h supplémentaires à la même température

- phase de confirmation : à partir de deux colonies caractéristiques sur chacun des milieux d'isolement, tests en deux étapes :

- sur gélose TSI et gélose au fer et à la lysine (LIA) dans un premier temps, incubées 24h ± 2h à 35°C ± 2°C

- à partir de colonies présumées positives sur chacune des géloses ci-dessus, confirmation par le test à l'urée, d'autres tests biochimiques, puis tests sérologiques

NB : même quand les tests décrits sont identiques à ceux de l'ISO, les milieux utilisés peuvent être différents.

Comme dans la méthode ISO, l'interprétation des résultats se fait à l'aide de tableaux.

3) ETUDE COLLABORATIVE

Comme pour chacune des méthodes microbiologiques évaluées au cours de ce programme européen, les échantillons utilisés se divisent en :

- matériaux de référence, à savoir des capsules de gélatine, préparées par le RIVM, contenant de la poudre de lait, contaminée par *Salmonella* Typhimurium.
- trois types d'aliments, représentatifs de la diversité du domaine d'application de la méthode, à savoir :
 - ♦ un produit laitier : fromage frais, préparé par CECALAIT,
 - ♦ un produit carné : poulet effilé, ionisé, puis recontaminé avant d'être rehydraté légèrement, préparé par le MAFF-CSL,
 - ♦ un produit sec : poudre d'oeuf, préparée par le RIVM, .

Ils ont tous été contaminés artificiellement, à trois niveaux d'inoculum (zéro, bas, haut), à la fois par des souches appropriées de *Salmonella*, non stressées, d'origine alimentaire, ainsi que par une flore autochtone simulée, constituée de bactéries lactiques et d'une flore Gram négative, pour le fromage, Gram positive pour la viande. La poudre d'oeuf a été contaminée à l'aide de capsules, tant pour la souche de *Salmonella*, que pour la microflore, Gram positive, simulée.

Quel que soit leur niveau de contamination, l'homogénéité et la stabilité des échantillons d'aliments ont été vérifiées avant le début de l'étude collaborative.

Les souches utilisées pour le poulet et la poudre d'oeufs sont respectivement *Salmonella* Typhimurium et *S. Panama*. Pour les échantillons de fromage, la souche utilisée a été *Salmonella enterica*, subsp. *enterica*, serovar Montevideo (aussi dénommée *S. montevideo*), une souche lactose positive, isolée aux Etats-Unis, à partir de soupe déshydratée. Les niveaux de contamination se sont finalement établis selon le tableau 1 suivant

tableau 1 : niveaux de contamination des échantillons de fromage

table 1 : contamination levels of the cheese samples

niveau level	souche de <i>Salmonella</i> (lactose +) lactose + <i>Salmonella</i> strain	flore autochtone autochthonous flora
bas low	5 – 10 / 25g	bactéries lactiques lactics 1000 / g
haut high	50 – 100 / 25g	+ flore gram négative gram negative flora 1000 / g

Un pré-essai entre les trois laboratoires partenaires pour bien cerner les difficultés de la méthode et fixer le mode opératoire a eu lieu à la fin de l'année 1999. Puis, après des essais d'entraînement à partir de capsules de référence, pour les laboratoires qui le souhaitaient pour se familiariser avec ces protocoles expérimentaux nouveaux ou peu usités en Europe, l'étude collaborative a eu lieu en mars et mai 2000 et a finalement rassemblé 17 laboratoires de 12 pays européens ainsi que 10 laboratoires américains.

Compte tenu du nombre de matrices et de niveaux à examiner en utilisant deux méthodes, les protocoles expérimentaux de chacune des méthodes ont cependant été allégés dans leur étape de confirmation. Ainsi, le nombre de colonies à confirmer a été réduit (moins de colonies et ne provenant, en outre que d'un seul des milieux d'isolement), de même que le nombre de tests biochimiques. Il s'ensuit que dans l'interprétation des résultats, ne pourront être comparées que les méthodes dans leur globalité : comparer les mérites de l'un ou l'autre milieu d'enrichissement ou d'isolement est impossible !

Les laboratoires européens pouvaient choisir les matrices qu'ils souhaitaient analyser, mais devaient obligatoirement utiliser la méthode ISO. Ils pouvaient, en outre, rajouter l'utilisation de la méthode AOAC.

Les analyses ont été effectuées en aveugle, avec 5 répétitions pour chaque niveau. Après exclusion des résultats des laboratoires ayant obtenu des résultats faux positifs ou dont les analyses des échantillons de référence n'avaient pas été satisfaisantes (je détection de moins de 4 échantillons positifs sur 5), le nombre de participants aux résultats exploitables est résumé dans le tableau 2, ci-dessous .

tableau 2 : nombre de laboratoires dont les résultats ont été exploitables

table 2 : number of laboratories which results were considered

fromage cheese	poudre d'oeuf egg powder	poulet poultry
ISO& AOAC : 16	ISO& AOAC : 15	ISO& AOAC : 14
ISO : 21	ISO : 21	ISO : 20
AOAC : 16	AOAC : 15	AOAC : 14

4) RESULTATS DE L'ETUDE COLLABORATIVE

Les résultats des organismes préparant les échantillons ont montré que leur stabilité et leur homogénéité étaient satisfaisantes.

Puis, le dépouillement des rapports d'essais a permis de constater que leur transport et leur réception avaient été globalement satisfaisants. En ce qui concerne le protocole de la méthode ISO, il a, en outre, montré la diversité des milieux d'isolement, choisis en

tant que deuxième milieu sélectif solide (cf protocole expérimental ci-dessus). Le libre choix de ce milieu semble donc bien correspondre à la pratique des laboratoires. Dans le détail :

- 9 laboratoires ont utilisé une gélose BS (3 fournisseurs différents),
- 4 laboratoires ont utilisé une gélose BGA, au vert brillant (2 fournisseurs différents),
- 2 laboratoires ont utilisé la gélose Rambach,
- Les géloses MLCB et HE ont été utilisées chacune par 1 laboratoire.

Les tableaux 3 et 4 présentent les valeurs de « fidélité » obtenues, en utilisant la méthode du projet de norme ISO 6579 ou la méthode AOAC. Les deux méthodes sont des méthodes qualitatives, où il s'agit de détecter la présence ou l'absence de microorganismes donnés, non de les dénombrer. Les critères habituels de fidélité (répétabilité, reproductibilité) ne peuvent donc être utilisés. A leur place, sont repris les critères de performance : sensibilité, spécificité, accordance, concordance, odds ratio, obtenus et mis au point dans l'étude (dans ce même programme communautaire) portant sur la recherche de *Listeria monocytogenes* (cf Lettre de CECALAIT, n°30, juillet 1999)

Tableau 3 : résultats obtenus en utilisant la méthode décrite dans le projet de norme ISO 6579

Table 3 : results obtained using ISO 6579 (draft) method

Echantillons samples	Niveau level	Nombre labos number labs	sensibilité sensitivity	spécificité specificity	accordance	concordance	odds ratio
Fromage cheese	témoin / blank	21	-	100 %	100 %	100 %	-
	bas / low	21	74,3 %	-	83,8 %	60,5 %	3,38 *
	haut / high	21	83,8 %	-	95,2 %	71,7 %	7,83 *
	RC **	23	100%	-	100 %	100 %	-
Poulet poultry	témoin / blank	20	-	100 %	100 %	100 %	-
	bas / low	20	98 %	-	96,9 %	96 %	1,3
	haut / high	20	100 %	-	100 %	100 %	-
poudre d'œuf egg powder	témoin / blank	21	-	100 %	100 %	100 %	-
	bas / low	21	98,1 %	-	96,2 %	96,2 %	1,32
	haut / high	21	99 %	-	98,1 %	98,1 %	-
Référence Reference		25	94,4 %	-	88,8 %	89,1 %	1

* valeur significative / **significant value**

** capsules de référence de *Salmonella*, ajoutées avant analyse par chaque participant à des échantillons non inoculés (2 par laboratoire) et servant de contrôles positifs

reference capsules of *Salmonella* added by each participant to uninoculated samples prior to analysis (2 per laboratory) standing for positive controls

avec / **with**

sensibilité : pourcentage d'échantillons positifs reconnus correctement

spécificité : pourcentage d'échantillons négatifs reconnus correctement

accordance : paramètre équivalent, en gros, à la répétabilité dans les études quantitatives

concordance : paramètre équivalent, en gros, à la reproductibilité dans les études quantitatives

odd ratio : paramètre permettant d'évaluer le degré des variations entre laboratoires, par comparaison entre les valeurs d'accordance et de concordance

(pour les définitions mathématiques exactes, merci de prendre contact avec CECALAIT)

sensitivity : % of samples that are correctly found to be positive

specificity : % of samples that are correctly found to be negative

accordance : parameter somehow equivalent to repeatability in quantitative studies

concordance : parameter somehow equivalent to reproducibility in quantitative studies

odds ratio : parameter to assess the degree of inter-laboratory variation, by comparison between the magnitudes of accordance and concordance.

(if you are interested in the exact mathematical definition, please contact CECALAIT)

Tableau 4 : résultats obtenus en utilisant les méthodes AOACI 995.20 et 2000.06

Table 4 : results obtained using AOACI OMA 995.20 & 2000.06 methods

Echantillons samples	Niveau level	Nombre labos number labs	sensibilité sensitivity	spécificité specificity	accordance	concordance	odds ratio
Fromage cheese	témoin / blank	16	-	100 %	100 %	100 %	-
	bas / low	16	83,8 %	-	88,8 %	71,6 %	3,14 *
	haut / high	16	91,3 %	-	88,8 %	83,6 %	1,56
	RC **	17	97%	-	94 %	94 %	1
Poulet poultry	témoin / blank	14	-	100 %	100 %	100 %	-
	bas / low	14	55,1 %	-	56,6 %	49,5 %	1,33
	haut / high	14	94,3 %	-	92,9 %	88,8 %	1,65
poudre d'œuf egg powder	témoin / blank	15	-	100 %	100 %	100 %	-
	bas / low	15	100 %	-	100 %	100 %	-
	haut / high	15	100 %	-	100 %	100 %	-
Référence Reference		18	96,7 %	-	93,3 %	93,4 %	1

Les tableaux 3 et 4 montrent que les performances des méthodes peuvent varier en fonction du type d'aliment et du niveau de contamination. La méthode ISO semble particulièrement bien convenir pour les faibles niveaux de contamination dans le poulet et la poudre d'œufs ; ses performances sur le fromage sont cependant satisfaisantes. La méthode AOAC semble convenir particulièrement bien pour la poudre d'œufs et est également très satisfaisante pour le fromage. En revanche, des difficultés sont apparues dans cette étude pour la détection des faibles niveaux de contamination en salmonelles dans le poulet. Elles ont, toutefois, été aplanies au cours d'une étude complémentaire, effectuée à la suite de cette étude collaborative, mais toujours dans le cadre du dossier de validation de la méthode ISO auprès de l'AOAC International.

5) ETUDES COMPLEMENTAIRES

Ces essais supplémentaires ont été nécessaires pour compléter le dossier de validation de la méthode ISO auprès de l'AOAC International. Il s'agissait, d'une part, de faire de nouvelles analyses par les deux méthodes sur des échantillons encore plus faiblement contaminés que précédemment ; d'autre part de tester la spécificité de la méthode ISO sur un grand nombre de souches. Ces essais n'ont cependant pas été repris par l'ensemble des participants à l'étude précédente.

➤ESSAIS COMPLEMENTAIRES DE DETECTION PAR LES METHODES ISO ET AOAC

Concernant les niveaux de contamination, l'AOAC International souhaite généralement effectuer des essais à des taux très bas, pour lesquels certaines des prises d'essai de 25g sont détectées négatives. Il a donc fallu préparer de nouveaux échantillons de poulet et de poudre d'œufs. Pour le fromage, les échantillons de fromage faiblement contaminés utilisés dans le cadre de l'étude collaborative ci-dessus avaient, en effet, abouti à un résultat jugé satisfaisant.

Les nouveaux échantillons de poudre d'œufs (appelés ici II) ont été préparés comme précédemment par le RIVM. En revanche, les échantillons de poulet (II) ont été préparés par le laboratoire BioControl Systems, aux Etats-Unis, à partir de poulet naturellement contaminé.

Les résultats, exprimés en nombres de résultats positifs, (ce qui correspond à la sensibilité, ramenée au nombre d'essais), obtenus pour l'ensemble des deux études avec les deux méthodes, sont donnés dans le tableau 5, ci-dessous (issu de la future publication de l'AOAC International sur ce point, Feldsine et al., 2001)

tableau 5 résultats de l'étude interlaboratoires pour la détection de *Salmonella* spp. dans les aliments par la méthode ISO 6579 (Pr.) et les méthodes AOACI 995.20 et 2000.06 (in Feldsine et al., 2001)

table 5: interlaboratory study results for the detection of *Salmonella* in foods by ISO 6579 (draft) culture method and AOACI OMA 995.20 and 2000.06 (in Feldsine et al., 2001)

Echantillons sample	Niveau level	NPP / g MPN / g	Nombre labos number labs	nombre de prises d'essais number of test portions	test positif / test positive*		** χ^2
					ISO	AOAC	
Fromage cheese	bas / low	0,028	15	75	57	65	3,1
	haut / high	1,49	15	75	66	70	1,5
	témoin / control	-	15	75	0	0	-
poudre d'œuf I egg powder I	bas / low	0,385	15	75	73	75	0,5
	haut / high	4,62	15	74	73	74	0,0
	témoin / control	-	15	74	0	0	-
poudre d'œuf II egg powder II	bas / low	0,028	8	40	13	19	1,6
	témoin / control	-	8	40	0	0	-
Poulet I poultry I	bas / low	0,147	15	74	72	39	29,3
	haut / high	0,231	15	75	75	70	3,2
	témoin / control	-	15	75	0	0	-
Poulet II poultry II	lot 1	0,009	13	78	15	14	0,0
	lot 2	0,042	13	78	14	24	3,1

avec / with

* positif : culture confirmée par la méthode ISO ou AOACI

positive : culturally confirmed data by ISO or AOACI method

** $\chi^2 : (|a-b| - 1)^2 / (a + b)$, avec a : nombre d'échantillons positifs par la méthode ISO et négatifs par la méthode AOACI et b : nombre d'échantillons négatifs par la méthode ISO et positifs par la méthode AOACI. $\chi^2 > 3,84$ indique une différence significative à $P < 0,05$

$\chi^2 : (|a-b| - 1)^2 / (a + b)$, where a : samples positive by ISO and negative by AOACI and b : samples negative by ISO and positive by AOACI. $\chi^2 > 3,84$ indicates significance at $P < 0,05$

Ces résultats montrent qu'à l'exception des taux faibles sur le lot de poulet I, les deux méthodes sont comparables.

➤ ESSAIS DE SPECIFICITE

Dans le cadre de la validation de la méthode ISO auprès de l'AOAC International, une étude de sa spécificité était nécessaire. Cette étude a été menée par l'AFSSA de Ploufragan, qui a donc appliqué

la méthode (sans les étapes de confirmation) à un ensemble de 100 à 200 souches de salmonelles et à une trentaine de germes n'appartenant pas à ce genre.

Le tableau 6 ci-dessous donne les principaux résultats obtenus. Les analyses effectuées sont détaillées après le tableau.

tableau 6 : étude de spécificité de la méthode ISO 6579 (Pr)

table 6 : specificity study using ISO 6579 (draft) method

	croissance après enrichissement growth after enrichment		après isolement after isolation		
souches strains	RVS	MKTTn	croissance après enrichissement RVS puis isolement growth after RVS enrichment and further isolation	croissance après enrichissement MKTTn puis isolement growth after MKTTn enrichment and further isolation	aspect colonies aspect of colonies
<i>Salmonella</i> spp.	81/125 *	102 /124 *	XLD : 84/117 BGA : 85/114 BS : 87/117 Rambach : 84/117 HE : 57/114 XLT4 : 78/117 SS : 65/114 *	XLD : 101/124 BGA : 104/123 BS : 105/124 Rambach : 102/124 HE : 93/123 XLT4 : 92/123 SS : 99/123 *	typiques sur XLD et BGA, rarement atypiques typical on XLD and BGA ; seldom atypical
S. Typhi	selon les souches : - 3 log ou survie depending on strains : - 3 log or survival	selon les souches : - 1 log ou survie depending on strains : - 1 log or survival			BGA : typiques / typical BS : noires / black Rambach : typiques si elles sont bien isolées, sinon atypiques Rambach : typical if well isolated, otherwise atypical atypiques sur autre gélose other media : atypical
S. Paratyphi B	comme / as <i>Salmonella</i> spp.				
S. Paratyphi C	inhibition	inhibition			
flore annexe / non-<i>Salmonella</i> flora					
<i>E. coli</i>	même croissance que <i>Salmonella</i> spp. same growth as <i>Salmonella</i> spp.			très différent de <i>Salmonella</i> spp very different from <i>Salmonella</i> spp.	
<i>Citrobacter</i>	± inhibée selon les souches depending on strains, may be inhibited			très ressemblant à <i>Salmonella</i> spp very close to <i>Salmonella</i> spp.	
<i>Proteus</i> <i>Providencia</i> <i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Serratia</i>	± inhibée selon les souches depending on strains, may be inhibited			± atypiques selon les souches	
<i>Morganella</i>		non inhibée no inhibition			depending on strains, may be atypical
autres genres other genera	inhibition				

* In Feldsine et al., 2001 : nombre de souches de *Salmonella* à 10⁸ cfu/mL, après enrichissement 24h
number of *Salmonella* strains at 10⁸ cfu/mL, after overnight enrichment

En règle générale, la procédure d'étude de la spécificité se borne à constater ou non la détection des germes testés. Le laboratoire a, ici, estimé qu'il serait plus judicieux et plus riche d'enseignements de procéder à un dénombrement à l'issue de chaque étape de la méthode, c'est à dire après pré-enrichissement, enrichissement sur chacun des milieux RVS et MKTTn et enfin isolement sur gélose XLD et sur une autre gélose.

Les dénombrements ont été effectués par la méthode Spiral sur gélose nutritive (PCA) après pré-enrichissement et enrichissement, puis sur 7 géloses d'isolement différentes, dont le milieu obligatoire XLD ainsi que les milieux les plus utilisés lors de la première étude collaborative. Au total, 134 souches de *Salmonella* spp., représentatives de l'ensemble des groupes de salmonelles ont ainsi été englobées dans l'étude, dont 46 sérotypes O différents ainsi qu'une dizaine de souches atypiques. Enfin, 8 souches de *S. Typhi* et 2 de *S. Paratyphi* ont également fait partie de cette étude.

A l'issue de l'étape de préenrichissement, l'ensemble des salmonelles, mais aussi la grande majorité des autres germes testés ont montré une croissance satisfaisante. Les résultats obtenus après les étapes ultérieures sont résumés dans le tableau 6 ci-dessus.

Il en ressort que, malgré la longueur et la complexité de la procédure, *Salmonella* spp. est convenablement détectée par cette méthode. Les risques de confusion avec d'autres genres n'apparaissent cependant pas négligeables, d'où l'importance d'une certaine expertise dans la méthode et, bien sûr, des étapes de confirmation.

Les choses sont encore plus délicates avec *S. Typhi* et *Paratyphi*. Pour *S. Typhi*, le degré d'inhibition après enrichissement en milieu RVS est tel qu'on ne peut espérer détecter cette espèce en présence d'autres salmonelles. L'enrichissement en milieu MKTTn est plus performant à cet égard, mais ne donne toutefois pas lieu à une forte croissance (pour mémoire, dans l'ancien bouillon sélénite, il y a soit survie, soit croissance très légère). Pour *S. Paratyphi*, les résultats sont visiblement très différents selon le sérovar testé : ici, un sérovar est détecté, pas l'autre.

6) CONCLUSION

A l'issue de cette étude, la méthode de référence ISO 6579 (pr.) a été trouvée globalement satisfaisante pour la détection de *Salmonella* spp., plus délicate pour la détection de *S. Typhi* et *S. Paratyphi*. Comparée aux méthodes américaines AOAC 995.20 & 2000.06, ses performances en termes de fidélité apparaissent équivalentes.

Il a donc été recommandé aux instances de l'AOAC International de valider la méthode ISO. Du côté des instances de l'ISO (et du CEN), les recommandations pour l'évolution de la norme et de son statut, tirées de cette étude, ont été décidées lors de la dernière réunion de ce programme, en juin 2001, à Berne. Il s'agit :

- ♦ d'inclure, en annexe informative de la future norme, les données de fidélité déterminées dans cette étude.

- ♦ de rajouter dans la partie « domaine d'application » un avertissement sur les risques de ne pas pouvoir détecter *S. Typhi* et *S. Paratyphi*.

- ♦ d'inclure les résultats de l'étude comparative avec les méthodes AOAC, à paraître dans Feldsine et al., 2001, dans la bibliographie de la future norme.

- ♦ de poursuivre la procédure de révision de la norme sur la base de ce projet de norme modifié.

Abréviations

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des aliments

AOAC ou AOACI : Association of Official Analytical Chemists International

AM : arrêté ministériel

BGA : gélose au vert brillant (brilliant green agar)

BPLS : gélose lactose-sucrose au vert brillant et au rouge de phénol (brilliant green phenol red lactose sucrose)

CEN : Comité Européen de Normalisation

DGAI : Direction Générale de l'Alimentation

ISO : International Standardization Organization

IvS : Institut de Veille Sanitaire

MAFF-CSL : Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Central Science Laboratory

MKTTn : bouillon Mueller-Kaufmann au tétrathionate-novobiocine

MLCB : gélose mannitol lysine au cristal violet et vert brillant

OMA : Official Methods of analysis

PCA : Plate Count Agar

RIVM : Rijks Instituut voor Volksgezondheid en Milieu

RVS : bouillon de Rappaport-Vassiliadis modifié, peptone de soja/ chlorure de magnésium/ vert malachite

RV : milieu de Rappaport-Vassiliadis

XLD : gélose xylose lysine désoxycholate

XLT4 : gélose xylose lysine tergitol 4

Bibliographie

- ♦ AOAC International Official method 995.20 *Salmonella* in raw, highly contaminated foods and poultry feed. Detection. In AOAC International Official methods of analysis, 17th edition, 2000, HORWITZ W. Ed., chapitre 17, 17.9.22, pages 120-122

- ♦ DG 24. Aperçu des critères microbiologiques pour les denrées alimentaires dans la législation communautaire en vigueur, mis à jour en juin 2001, paru le 20/09/2001 sur http://europa.eu.int/comm/food/fs/sfp/mr/mr_crit_fr.pdf, 5 pages

- ♦ DGAI/SDHA. Critères microbiologiques applicables aux aliments. 2^e version. Note de service n°2001-8090 du 27/06/2001, 17 pages.

- ♦ FELDSINE P. et al. Recovery of *Salmonella* in selected foods by the International Standard Organization 6579 *Salmonella* culture procedure and the AOAC International Official Method of analysis : collaborative study. J. AOAC Int., 2001

- ♦ HEUCHEL V. Origines et moyens de maîtrise à la production de la contamination du lait de vache par les salmonelles. Point n°13 Institut de l'Elevage ICTA Pilote, Rapport final (dossier, n° 97/04-2), 2000, 8 p.

- ♦ NORME NF EN 12824, février 1998 Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella*. (AFNOR V 08-013), 31 pages

- ♦ PROJET DE NORME NF EN ISO 6579, juin 2000 Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. (AFNOR V 08-034), 25 pages

- ♦ site consacré à l'hygiène alimentaire et aux principales toxi-infections alimentaires collectives : <http://www.chez.com/guatemalt/SALMON.html>

- ♦ http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/salmonellosis_g.htm
- ♦ US Food & Drug Administration / Center for Food Safety & Applied Nutrition. *Salmonella* spp. In Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook (Bad Bug Book). <http://vm.cfsan.fda.gov/mow/chap11.ht>

- ♦ VAN SCHOTHORST M.; RENAUD A.; VAN BEEK C. *Salmonella* isolation using RVS broth and MCLB agar. Food Microbiology, 1987, V ; 4, p. 11-18

Nouveautés dans la réglementation

FRANCE

Arrêté du 22 septembre 2001, portant classement sur les listes des substances vénéneuses (JO France du 26/9/2001). Y figure notamment l'agent de la brucellose.

Arrêté du 22 août 2001, désignant le **laboratoire national d'essais pour certaines opérations de contrôle métrologique d'effet national** (JO France du 6/9/2001). Ce texte fait suite au décret du 3 mai 2001 (cf Lettre de CECALAIT n° 37) concernant le contrôle des instruments de mesure. Le LNE devient notamment responsable de l'approbation et la surveillance du système d'assurance qualité chez les fabricants, réparateurs et installateurs d'instruments de mesure.

Arrêté du 31 juillet 2001, modifiant l'arrêté du 2/10/1997 relatif aux **additifs** pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine (JO France du 12/9/2001). Ce texte ajoute quelques modifications mineures aux annexes III-D « autres additifs autorisés » et IV « supports et solvants porteurs autorisés ».

Décret n°2001-725 du 31 juillet 2001, relatif aux **auxiliaires technologiques** pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine (JO France du 5/8/2001). Ce texte s'applique à un peu plus d'une quinzaine de catégories d'auxiliaires technologiques, des antimousses aux solvants d'extraction, en passant par les enzymes et les biocides. Il explique que leur liste, leurs critères d'identité et de pureté, leurs règles d'utilisation seront définis par arrêté ministériel, après avis de l'AFSSA. Il précise en outre leurs règles d'étiquetage.

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



à signaler également

➤ note de service de la DGAI / SDHA / n° 2001-8090 du 27/6/2001 sur les **critères microbiologiques applicable aux aliments. 2^e version**

Nous avons salué au moment de la parution de la première version en décembre 2000 (cf Lettre de CECALAIT n° 36) le remarquable effort de synthèse de la DGAI, rassemblant en un document l'ensemble des critères microbiologiques applicables aux aliments, auparavant dispersés dans une bonne vingtaine de textes. Cette 2^e version corrige quelques incohérences apparues lors de la première version, entre données issues de textes différents et éloignés dans le temps notamment. Elle incorpore en outre les modifications de la réglementation survenues entre les deux versions. Ainsi pour le

lait pasteurisé conditionné, les crèmes destinées à la consommation humaine et les beurres, les nouvelles données fournies tiennent maintenant compte des catégories et critères définis par l'AM du 20/12/2000. [modifiant l'arrêté du 21/12/1979, relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certaines denrées animales ou d'origine animale (JO France du 1/2/2001)].

➤ avis de l'AFSSA du 1^{er} juin 2001 autorisant l'enrichissement en vitamine D du lait, des yaourts, laits fermentés et fromages frais.

➤ Publication par le Ministère de l'Agriculture de la Liste des établissements français préparant des denrées animales ou d'origine animale, conformes aux dispositions communautaires (15 juillet 2001). Pour le lait et les produits laitiers, il s'agit donc de la mise à jour de la liste des établissements agréés pour la mise sur le marché communautaire : disponible en 68 pages sur http://www.agriculture.gouv.fr/alim/secu/regl/etabliss-agrees_2001/lait.pdf

➤ Publication du Rapport d'activité 2000 de la DGCCRF sur <http://www.finances.gouv.fr/DGCCRF/activites/index-d.htm>

➤ Publication par la DGAI du Bilan du plan de contrôle 1999 des résidus chimiques dans le lait, paru dans NOTRE ALIMENTATION n°37 (juin-juillet 2001), désormais disponible en ligne sur http://www.agriculture.gouv.fr/medi/kios/notre_alim.htm

UNION EUROPEENNE

Directive 2001/57/CE de la Commission du 25 juillet 2001 modifiant les annexes des directives.....86/363/CEE concernant la fixation de teneurs maximales **pour les résidus de pesticides** sur et dansles denrées alimentaires d'origine animale.... (JOCE L208 du 1/8/2001)

Ce texte complète la liste des teneurs maximales de résidus de pesticides autorisées dans le lait et les produits laitiers avec le fluroxypyr : 0,05 mg/kg.

Règlements 1478, 1553, 1680, 1815 et 1879/2001, respectivement des 18 juillet, 30 juillet, 22 août, 14 et 26 septembre 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 L195 du 19/7/2001, L205 du 31/7/2001, L 227 du 23/8/2001, L246 du 15/9/2001 et L258 du 27/9/2001).

Le texte 1553/2001 modifie l'annexe I, le texte 1879 l'annexe II, le texte 1680/2001 les annexes I et II, les textes 1478/2001 et 1815/2001 (ce dernier rectifié le 9 octobre 2001 au JOCE L 268) les annexes I, II et III.

Les substances rajoutées à la liste de l'annexe III ne concernent pas le lait ou les espèces productrices de lait. En revanche, ont été ainsi rajoutées :

▪ à la liste des LMRs de l'annexe I :

➤ les antibiotiques : bacitracine : 100 µg/kg de lait, céphapirine : 60µg/kg, acide clavulanique : 200 µg/kg ; les antiparasitaires : moxidectine : 40 µg/kg et deltaméthrine : 20µg/kg.

▪ à la liste des substances non soumises à LMR de l'annexe II :

➤ le trioléate de sorbitan et la vitamine A pour toutes les espèces productrices d'aliments, le sodium de tosylchloramide pour les bovins.

➔ à signaler également

➤ **Directive 2001/79/CE** de la Commission du 17 septembre 2001 modifiant la directive 87/153/CEE portant fixation de lignes directrices pour l'évaluation des additifs dans l'alimentation des animaux (JOCE L 267 du 6/10/2001)

➤ **Directive 2001/46/CE** du Parlement européen et du Conseil du 23 juillet 2001 modifiant la directive 95/53/CE du Conseil fixant les principes relatifs à l'organisation des contrôles officiels dans le domaine de l'alimentation animale ainsi que les directives 70/524/CEE, 96/25/CE et 1999/29/CE du Conseil concernant l'alimentation animale (JOCE L234 du 1/9/2001)

➤ DG 24. Aperçu des critères microbiologiques pour les denrées alimentaires dans la législation communautaire en vigueur, mis à jour en juin 2001, paru le 20/09/2001 sur http://europa.eu.int/comm/food/fs/sfp/mr/mr_crit_fr.pdf, 5 pages.

Pour le lait et les produits laitiers, ils sont tous issus de la directive 92/46. Le regroupement dans une même zone de ce tableau permet de les balayer d'un coup d'œilet de constater de suite les différences avec la réglementation française !

➔ à suivre ...

➤ Un projet d'évaluation des risques chimiques dans l'alimentation, soutenu par l'Union Européenne. Il a commencé en avril 2000 et s'est divisé en 6 groupes de travail, dont les premières publications ne devraient pas tarder (projet FOSIE). Renseignements auprès de stuijtelars@ilsieurope.be

➤ une stratégie proposée par la Commission pour réduire la présence de dioxine dans l'alimentation humaine et l'alimentation animale, consultable sur http://www.europa.eu.int/rapid/start/cgi/guesten.ksh?p_action.gettxt=gt&oc=IP/01/1045|0|RAPID&lg=FR

Les Journaux Officiels de l'Union Européenne des 45 derniers jours sont consultables sur <http://europa.eu.int/eur-lex/fr/roj>

Les textes plus anciens peuvent être consultés selon un classement thématique sur <http://europa.eu.int/eur-lex/fr/lif> ou recherchés selon leur date sur http://europa.eu.int/eur-lex/fr/search/search_lif.html

Du côté de la biblio

Vous 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 de

• **DACOSTA Y.** Probiotiques et prébiotiques en alimentation humaine, Editions Yves Dacosta (47, rue Guersant, 75017 Paris), 2001, 228 pages.

• **DEBRY G.** [coordonnateur] Lait, nutrition et santé. 2001, Editions Lavoisier Tec. & Doc, 566 pages

• un article sur les **peptides antimicrobiens : antibiotiques du futur ?** (de J.L. DIMARCO & J.A. HOFFMANN) dans le n° 212, juin 2001 de la revue BIOFUTUR, P. 21-23.

• un dossier sur les **Listeria** dans le n° 239, avril 2001, de la Revue des ENIL, p. 21-26.

• **Annuaire RIA** des fournisseurs des industriels de l'alimentaire. Edition 2001

• les actes du séminaire tenu en mars 2000, à Banff (Canada) par la FIL sur « **Cheese ripening and technology** », dans la revue International Dairy Journal, 2001, V. 11, n° 4-7, 392 pages.

• les actes du séminaire tenu en juillet 2001, à Melbourne (Australie) « **From fram to fork 2001** », dans la revue Australian Journal of Dairy Technology, 2001, V. 56, n° 2, 121 pages.

• le rapport annuel de la FAO sur la **situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture** (SOFA 2001), disponible sur <http://www.fao.org/DOCREP/003/X9800F/X9800F00.HTM>

• une fiche de synthèse sur les **dioxines et les PCB** dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, émanant de la Commission Européenne, publiée le 20/7/2001, 9 pages, sur http://www.europa.eu.int/rapid/start/cgi/guesten.ksh?p_action.gettxt=gt&oc=MEMO/01/270|0|RAPID&lg=FR

• une monographie sur l'**antibiorésistance** à paraître le 18 Novembre 2001. Elle est publiée par l'Office international des Epizooties, à partir d'une série d'articles préparés par le groupe d'experts de l'OIE travaillant sur cette question et destinés à

paraître dans la revue émanant de cet organisme (OIE Scientific and Technical Review). Ils auront vraisemblablement tenu compte des présentations faites lors de la 2^{ème} conférence de l'OIE sur l'antibiorésistance qui s'est tenue au début de ce mois d'octobre 2001.

Tous les articles sont en anglais, avec résumés en français et en espagnol. ISBN 92-9044-553-X.

Validations AFNOR

AFNOR Certification nous a fourni sa dernière liste de méthodes alternatives d'analyses validées, en date du 28 septembre 2001.

🔗 NOUVELLES VALIDATIONS

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.

Deux nouvelles méthodes ont ainsi été validées. Il s'agit de :

- **DYNABEADS LISTERIA** de la société Dynal Biotech, validée le 27 septembre 2001 (*n° d'attestation DYN-16/3-09/01*), un dispositif de séparation immunomagnétique rapide pour la détection de *Listeria* spp. dans tous les produits d'alimentation humaine.

- **RAPID'L. mono** de la société Bio-Rad, validée le 28 septembre 2001 (*n° d'attestation SDP-07/5-09/01*), un milieu sélectif pour le dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans les produits laitiers, carnés et les produits de la pêche.

Nous vous fournirons des informations plus détaillées dès la parution des attestations de validation correspondantes.

🔗 RECONDUCTION DE VALIDATION

Une validation de méthode a été reconduite pour une période de 4 ans. Il s'agit de **Dynabeads anti Salmonella** (*n° d'attestation : DYN-16/1 - 06/96*), validé jusqu'au 27 juin 2004, pour tous les produits d'alimentation humaine, sauf les œufs frais.

🔗 PROLONGATIONS DE VALIDATIONS

Dans l'attente de l'examen de leur dossier, la validation des méthodes suivantes a été prolongée de quelques mois jusqu'au 31 décembre 2001 :

- différents **Petrifilm P2000** de numération rapide des coliformes, 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*),

- test **Petrifilm E. coli** et coliformes, pour la numération rapide des *E. coli* β-glucuronidase positifs (*n° d'attestation 3M-01/4-09/92*).

- milieu **Rapid'E. coli 2**, pour la numération rapide des *E. coli* β-glucuronidase positifs (*n° d'attestation SDP-07/1-07/93*).

🔗 FIN DE VALIDATION

Il n'a pas été sollicité de reconduction de la validation du test Valio T101, test de recherche des résidus d'antibiotiques et de sulfamides dans le lait. (*n° d'attestation UCB-01/2-09/97*).

🔗 DES DETAILS SUPPLEMENTAIRES

Les textes des attestations de validation correspondant aux trois méthodes validées au cours du dernier trimestre (signalées dans la Lettre de CECALAIT n° 37) sont parus. Il s'agit de :

- **TRANSIA PLATE Salmonella Gold**, de la société Diffchamb (*n° d'attestation : TRA 02/8 - 03/01*), un test immunoenzymatique, basé sur une réaction de type sandwich, qui permet la détection de tous les sérotypes de *Salmonella* dans tous les produits d'alimentation humaine et animale.

Le test est effectué après pré-enrichissement en eau peptonnée tamponnée et enrichissement en milieu RVS, comme pour la méthode de référence (NF EN 12824). Les antigènes de *Salmonella* éventuellement présents dans le milieu sont libérés par un choc thermique et réagissent avec les anticorps spécifiques du genre, greffés dans les puits des plaques de microtitration. Les résultats sont donnés par lecture de la densité optique (DO) à 450 nm.

Les résultats positifs (lecture de DO positive) ne requièrent pas de confirmation. Au total, la méthode permet d'obtenir un résultat négatif ou positif en 2 à 3 jours, contre 5 à 7 jours par la méthode de référence. En cas de lecture douteuse de DO, ce délai monte à 5-6 jours. Aucune réaction croisée n'a eu lieu en présence de souches n'appartenant pas au genre et 67 souches de *Salmonella* ont été détectées sur les 70 testées : la spécificité de la méthode a donc été jugée satisfaisante. Sa sensibilité est comparable à celle de la méthode de référence et, en termes de justesse, le taux de concordance entre les deux méthodes est de 98,6%.

▪ **βS.T.A.R.**, de la société UCB Bioproducts (Belgique), (*n° d'attestation : UCB-11/3 – 03/01*). C'est un test de détection des résidus actifs d'antibiotiques de la famille des β-lactamines dans le lait. La méthode est de type « receptor assay », basée sur l'utilisation de récepteurs spécifiques.

Lors de la première phase d'incubation, les β-lactamines présentes se lient à ces récepteurs. Dans une deuxième phase d'incubation, le lait migre sur un support immunochromatographique qui comporte deux bandes de capture. L'une des deux bandes sert de référence. L'autre est destinée à lier tous les récepteurs restés libres à l'issue de la première phase, ce qui fait apparaître une intense coloration rouge. En l'absence de résidus, les récepteurs sont effectivement libres, d'où coloration rouge. En revanche, en présence de β-lactamines, les récepteurs sont liés aux antibiotiques et ne peuvent pas se lier à nouveau : aucune coloration n'apparaît. Le test existe en deux versions (25 et 100), dont les deux protocoles ont été utilisés lors des études de validation.

La méthode permet d'obtenir un résultat positif ou négatif en 6 mn, contre 2h30 au minimum par la méthode de référence (1ère partie : acidification). La limite de détection de cette méthode rapide est bonne, inférieure à celle de la méthode de référence et inférieure aux LMRs (limites maximales de résidus) pour les β-lactamines testées. Sa spécificité vis à vis de cette famille d'antibiotiques a, de plus été bien établie, puisque n'a été mise en évidence aucune réaction croisée avec des antibiotiques d'autres familles. Ses performances de fidélité apparaissent satisfaisantes.

En termes de justesse, la concordance avec la méthode de référence est de 100%.

▪ **PETRIFILM SELECT'E. COLI**, de la société 3M (*n° d'attestation : 3M-01/8 – 06/01*), un Petrifilm pour le dénombrement rapide des *Escherichia coli* β-glucuronidase positifs dans tous les produits d'alimentation humaine.

Le test est basé sur le principe habituel des Petrifilm. Mais le milieu contient du 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide (BCIG) qui réagit avec la β-glucuronidase des colonies de *E. coli* en donnant une coloration verte.

Le temps nécessaire à l'obtention des résultats est le même que pour la méthode de référence, mais le gain de temps avec la méthode rapide se situe principalement dans le temps de manipulation. En outre, comme il est rare que des colonies non caractéristiques se développent, la lecture de produits fortement contaminés par une flore annexe est plus facile que par la méthode de référence. La spécificité de la méthode est satisfaisante ; aucun faux positif n'ayant été mis en évidence. La méthode est linéaire et ses performances de répétabilité et de reproductibilité sont satisfaisantes, quel que soit le niveau de contamination. En termes de justesse, les performances de la méthode sont comparables à celles de la méthode de référence.

Les textes des attestations de validation sont disponibles auprès de AFNOR Certification

(11, av. Francis de Pressensé 93571 LA PLAINE SAINT DENIS CEDEX, tel : 01.41.62.83.09, fax : 01.49.17.90.40)

Normes et projets de normes parus récemment (reçus entre Juillet et Octobre 2001)

NORMES FRANCAISES ET INTERNATIONALES

NF EN ISO 8261, (AFNOR V 04-018), octobre 2001. (*ICS 07.100.30 : microbiologie alimentaire, 67.100.01 : lait et produits laitiers en général*) LAIT ET PRODUITS LAITIERS Lignes directrices générales pour la préparation des échantillons pour essai, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.

Nous n'avons pas encore reçu ce texte. Nous vous fournirons de plus amples détails dès réception.

NF ISO 16649-1, (AFNOR V 08-031-1), août 2001 & **NF ISO 16649-2**, (AFNOR V 08-031-2), juillet 2001. (*ICS 07.100.30 : microbiologie alimentaire*) MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* β-glucuronidase positive.

Partie 1 : technique de comptage des colonies à 44°C au moyen de membranes et de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β-D-glucuronate &

Partie 2 : technique de comptage des colonies à 44°C au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β-D-glucuronate

Ces textes font suite aux projets de même intitulé, parus en août 1999. Ils décrivent une méthode de dénombrement des *E. coli* par ensemencement de la suspension mère et de dilutions décimales

successives sur un milieu sélectif solide, contenant un substrat chromogénique. Celui-ci est spécifique de l'enzyme β-glucuronidase. En conséquence, la méthode ne peut être applicable aux *E. coli* β-glucuronidase négative, notamment *E. coli* O157:H7. La partie 1 comprend une étape de revivification sur membranes avant ensemencement du milieu sélectif et convient donc plus particulièrement aux germes stressés.

NF EN ISO 16654, (AFNOR V 08-032), juillet 2001. (*ICS*

07.100.30 : microbiologie alimentaire) MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157.

Ce texte fait suite au projet de même intitulé, paru en juin 1999. Les *E. coli* O157 y sont détectés en 4 étapes successives après la préparation de la suspension mère :

- enrichissement en milieu liquide (bouillon tryptone soja modifié + novobiocine).
- concentration par séparation immunomagnétique.
- cultures secondaires des billes immunomagnétiques ayant capturé des bactéries, sur deux géloses d'isolement sélective ; l'une obligatoire (Mac Conkey au sorbitol cefixime tellurite), l'autre laissée au libre choix du laboratoire.

- confirmation de 5 colonies caractéristiques sur chacune des géloses d'isolement par tests biochimiques et identification sérologique.

NF ISO 16269-7, (AFNOR X 06-040-7), août 2001. (ICS 03.120.30 : application des méthodes statistiques) INTERPRETATION STATISTIQUE DES DONNEES Partie 7 : Médiane - Estimation et intervalles de confiance

Ce texte fait suite au projet de même intitulé, paru en mars 2000. Il annule et remplace la norme ISO 8595 :1989, dont il constitue une révision technique complète. Il s'inscrit, en outre, dans le vaste ensemble que constituera la norme ISO 16269 en 7 parties –dont les 6 premières sont encore en préparation- consacrée à « l'interprétation statistique des données ». La médiane est généralement considérée comme un estimateur plus pertinent que la moyenne dans la mesure où elle tient compte de la distribution des données.

NORMES FRANCAISES

B 35-357, septembre 2001. (ICS 67.260 : installation et matériel pour l'industrie alimentaire, 71.040.20 : verrerie de laboratoire et appareils connexes) Butyromètre à lait de brebis.

Ce texte fait suite au projet de même intitulé, paru en mars 2001. Il fixe les caractéristiques des butyromètres utilisés pour la détermination par une méthode acido-butyrométrique de la matière grasse dans le lait de brebis ; celle-ci étant comprise entre 5 et 17 g/ 100 ml de lait. Ces butyromètres sont classés en deux types, selon leur domaine de mesure : de 5 à 12 g/100 ml (butyromètres 5-12) ou de 10 à 17 g/100 ml (butyromètres 10-17). L'annexe normative du texte détaille en outre les spécifications de leurs bouchons.

B 35-522, septembre 2001. (ICS 67.260 : installation et matériel pour l'industrie alimentaire, 71.040.20 : verrerie de laboratoire et appareils connexes) VERRERIE DE LABORATOIRE Aréomètres à masse volumique pour le lait et les produits laitiers liquides.

Ce texte fait suite au projet de norme de même intitulé, paru en mars 2001 ; en outre, il annule et remplace la norme précédente, datant d'octobre 1967. Toutes les unités mentionnées dans le document appartiennent maintenant au système international SI, contrairement à l'ancienne version. De plus, la mise en page a été refondue, allégée et aérée.

FD V 03-116, juin 2001. (ICS 17.020 : métrologie et mesurage en général, 67.050 : méthodes générales d'analyse et d'essai des produits alimentaires) Analyse des produits agricoles et alimentaires. Guide d'application des données métrologiques.

Ce volumineux document (50 pages environ) se veut une aide pour pouvoir transposer au domaine des analyses agro-alimentaires des concepts initialement définis dans les industries mécanique et électrique. Il donne donc un ensemble de définitions, mais aussi de termes à bannir. Puis il propose une démarche pour établir et interpréter les tolérances et les erreurs maximales tolérées. Enfin, il donne un certain nombre d'exemples de calculs d'incertitudes types, à partir de données issues d'analyses agro-alimentaires, entre autres, dans le domaine du lait et des produits laitiers (in « estimation de l'incertitude à l'aide

de matériaux de référence certifiés : exemple du dosage de l'aflatoxine M1 dans le lait »)

PROJETS DE NORMES

➤ PROJETS AFNOR / ISO

projet NF ISO 18330, (AFNOR V 04-157), septembre 2001. LAIT ET PRODUITS LAITIERS Lignes directrices pour une description normalisée des essais de confirmation préliminaire pour la détection des résidus d'inhibiteurs microbiens

projet NF EN ISO 14675, (AFNOR V 04-174), septembre 2001. LAIT ET PRODUITS LAITIERS Lignes directrices pour une description normalisée des dosages immunoenzymatiques. Détermination de la teneur en aflatoxine M1

Projet NF EN ISO 4833, (AFNOR V 08-011), octobre 2001. MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Méthode horizontale pour le dénombrement des microorganismes – Technique de comptage des colonies à 30°C.

Projet NF EN ISO 6888-3, (AFNOR V 08-014-3), septembre 2001. MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) – Partie 3 : recherche et méthode NPP pour les faibles nombres.

Projet NF ISO 15213, (AFNOR V 08-029), novembre 2001. MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries sulfito-réductrices se développant en conditions anaérobies.

projet NF EN ISO 10012, (AFNOR X 07-009), août 2001. Systèmes de maîtrise de la mesure.

➤ PROJETS AFNOR

projet V 04-156, août 2001. LAIT ECREME Détermination de la teneur en matière grasse. *Méthode acido-butyrométrique*

Projet V 04-369, août 2001. LAIT FERMENTE Détermination de l'acidité titrable

Projet V 04-370, août 2001. LAIT FERMENTE Détermination de la matière sèche totale

Projet AFNOR V 08-059, octobre 2001. MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies à 25°C. Méthode de routine.

projet ISO 6785 :2001, octobre 2001. MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies à 25°C. Méthode de routine.

➤ à signaler également la parution de

☞ deux normes ISO

- **ISO 6785:2001, mai 2001** Lait et produits laitiers. Recherche de *Salmonella* spp.

- ISO 17410:2001, mai 2001 microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes psychrotrophes.

Nous vous fournirons de plus amples détails sur ces deux textes ultérieurement, si l'AFNOR les reprend à son compte.

↳ **plusieurs ensembles de normes** dans le domaine de la biotechnologie :

- série NF EN 13312-1 à 6, parues en juin 2001, , définissant les critères de performance pour les tuyauteries et l'instrumentation.
- série NF EN 13311-2 & 3, parues en juillet 2001, , définissant les critères de performance des récipients.

↳ **un ensemble de normes et projets de normes** dans le domaine des méthodes d'analyse en santé animale : série U 47..., notamment prU 47-102, sur l'isolement et l'identification des salmonelles chez les mammifères

↳ **différents projets de normes liés aux produits alimentaires**

- NF EN ISO 14148 , (AFNOR V 03-129), septembre 2001. Dosage de la vitamine K1 dans les produits alimentaires par HPLC
- projet NF EN ISO 14185 , (AFNOR V 03-093), juillet 2001. Dosage des pesticides N-méthylcarbamates dans les produits alimentaires par HPLC
- projet NF EN ISO 1186-1 , septembre 2001. Matériaux et objets en contact avec les denrées alimentaires. Matière plastique : Partie 1 : guide pour le choix des conditions et des méthodes d'essai en matière de migration globale.
- projet NF ISO 4120 , (AFNOR V 09-013), novembre 2001. Analyse sensorielle. Méthodologie – Essai triangulaire

↳ **des recommandations de l'IUPAC** (International Union of Pure and Applied Chemistry) concernant les consignes à respecter dans les rapports et articles scientifiques consacrés aux appareils utilisés en spectroscopie à transformée de Fourier, pour notamment pouvoir comparer plus facilement des données issues d'études différentes. Elles sont parues dans l'article suivant : BERTIE J.E. Specification of components, methods and parameters in Fourier transform spectroscopy by Michelson and related interferometers : IUPAC recommendations 1998. Applied Spectroscopy, 2001, V. 55, N. 4, p. 510-514

Brèves...

➤ Depuis quelques semaines, une discussion informelle, mais néanmoins instructive sur le contrôle microbiologique des surfaces a démarré au sein de la liste de diffusion HYGIENE, consacrée à l'hygiène alimentaire. Cette liste est accessible par <http://groups.yahoo.com/group/hygiene> et propose un archivage thématique sur <http://www.chez.com/guatemalt/liste.html>.

➤ L'AFSSA publie des tables de composition des aliments, donnant par catégorie d'aliments (produits laitiers, carnés etc...) la teneur des aliments en certains composés : glucides, vitamines, minéraux.... etc... Ces tables ont été établies grâce aux travaux du CIQUAL (Centre Informatique sur la Qualité des Aliments) qui les complète et les met à jour régulièrement. Consultables sur <http://www.afssa.fr/ftp/basedoc/tablesaliments/Sommaire.html>

RENDEZ-VOUS / FORTHCOMING EVENTS

➔ RAPPELS / REMINDER

28 octobre – 1 novembre 2001
28 october – 1st november 2001
 AUCKLAND, NOUVELLE ZELANDE
NEW ZEALAND
 World Dairy Summit

22-25 Octobre 2001
22 – 25 October 2001
 SAINT LOUIS (FRANCE)
 10^e Congrès International de métrologie
 10th International metrology congress

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

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

RENSEIGNEMENTS / CONTACT

Tel : 32/2.733.1690
 Fax : 32/2.733.04.13
 e-mail : CBrooks@fil-idf.org
www.idf-wds2001.org

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

14-16 novembre 2001
14-16 november 2001
BORDEAUX (FRANCE)
11^e 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
<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
<http://www.pasteurmed.com/events>

15-16 novembre 2001
15-16 november 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
www.asfilab.org

28-30 novembre 2001
28-30 november 2001
NANTES (FRANCE)
6^e symposium international sur l'authenticité et
la sécurité des produits alimentaires
6th 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
www.eurofins-fasis.com

➔ AUTRES MANIFESTATIONS / OTHER EVENTS

5-6 décembre 2001
PARIS
(Cité des Sciences & de l'Industrie)
8^e Rencontres Recherches Ruminants
organisées conjointement par l'INRA et l'Institut
de l'Élevage

secrétariat 3R
Yves CHABERT
Institut de l'Élevage
149, rue de Bercy
75595 PARIS CEDEX 12

tel : +33 (0)1 40 04 51 75
fax : +33 (0)1 40 04 52 80
e-mail : sirdoc@inst-elevage.asso.fr
www.acta.asso.fr/3R/congres.html

5-7 décembre 2001
5-7 december 2001
BERLIN (ALLEMAGNE)
GERMANY
EUROCAFT 2001
European Conference on advanced technology
for safe and high quality foods

EUROCAFT Conference secretariat
Gill HEATON
Hilbide Cottages
Wheatley Road, Islip
OXFORD OX5 2TF 373625
UK

tel : +44 (0) 1865 373625
fax : +44 (0) 1865 375855
e-mail : eurocaft@heaton-connexion.co.uk
<http://www.eurocaft2001.com>

26-27 mars 2002
26-27 march 2002
NANCY (FRANCE)
AGORAL 2002 : prévision, analyse et gestion
du risque alimentaire
AGORAL 2002 : anticipating, analysing and
managing food hazard

AGORAL
1, avenue des olympiades
91744 MASSY CEDEX

Tel : +33 (0)1 69 93 50 81
Fax : +33 (0)1 69 93 50 44
e-mail : agoral@ensia.inra.fr
<http://www.agoral.org>

21-26 avril 2002
21-26 april 2002
TOLEDO (ESPAGNE)
SPAIN
FIL – IDF Analytical week and symposium

FIL – IDF secretariat

e-mail : CBrooks@fil-idf.org

3- 5 juin 2002

www.fmp2002.dk

3 - 5 June 2002

KOLDING (DANEMARK)

DENMARK

IDF Symposium on New Developments in
Technology of Fermented Milk Products

9- 14 juin 2002

FIL – IDF secretariat

9-14 June 2002

MADISON WI, USA

IDF Legislation Week

Faute de place, les résumés des interventions de M. SCHMITT (Utilisation de techniques analytiques pour la caractérisation physico-chimique des fromages) et M. CHORIN (L'accréditation : vers le référentiel NF EN ISO CEI 17025), lors de l'Assemblée Générale de CECALAIT en juin 2001 sont remis au prochain numéro de La Lettre de CECALAIT. Nous vous remercions de votre compréhension et de votre patience.

La Lettre de CECALAIT est éditée par CECALAIT, BP 129, 39802 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 129, 39802 POLIGNY CEDEX
3^e trimestre 2001
Dépôt légal : à parution
ISSN 1298-6976