

# LE DENOMBREMENT DES *PSEUDOMONAS SPP* DANS LES PRODUITS LAITIERS : DE LA DIFFICULTE DE CHOISIR UNE METHODE ADAPTEE

## PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

A la demande du groupe mixte de travail FIL - France ALF et AFNOR (section microbiologie des produits laitiers), une étude a été engagée afin d'évaluer la pertinence pour la filière lait d'une méthode horizontale (proposition ISO/WD 13720) pour le dénombrement des *Pseudomonas spp* dans les produits alimentaires et destinés à l'alimentation animale. Cette étude s'est organisée en 2 parties:

- Inventaire des méthodes de dénombrement décrites dans la littérature scientifique et des méthodes mises en place par les laboratoires interprofessionnels laitiers,
- Comparaison quantitative et qualitative de 2 protocoles de dénombrement (dont le protocole proposé par la norme ISO/WD 13720).

La première partie a fait l'objet d'un précédent article paru dans la Lettre de CECALAIT n° 48.

### CONTEXTE

Dans le cadre de l'harmonisation des méthodes d'analyse, l'ISO a proposé une méthode horizontale pour le dénombrement des *Pseudomonas spp* dans les produits alimentaires et destinés à l'alimentation animale (ISO/WD 13720).

L'objectif annoncé est de dénombrer tous les *Pseudomonas spp* psychrophiles, pigmentés ou non, qui jouent un rôle important dans l'altération des produits. La définition méthodologique décrite dans ce projet de norme est la suivante :

Bactéries du genre *Pseudomonas* qui forment des colonies sur gélose Cetrimide (10 mg/l final), Fucidine (10 mg/l final) et Cephalosporine (50 mg/l final) agar (CFC) après incubation à 25°C (en 48 heures) et qui, de plus présentent les caractéristiques suivantes :

- réaction positive au test oxydase en 10 secondes
- absence de fermentation du glucose (en 24 heures à 37°C)

Remarque : les tests préconisés sont à mener après isolement des colonies sur gélose nutritive ordinaire et incubation 24 heures à 25°C.

La méthode proposée est identique à celle de la norme V 04-504 destinée au dénombrement des *Pseudomonas* dans les viandes et produits à base de viande.

Comme développé dans le précédent article relatif à ce sujet, les *Pseudomonas spp* isolés dans les produits laitiers et leur environnement se distinguent par leur caractère hyperadapté et donc, entre autres, leur diversité phénotypique. Par ailleurs, les *Pseudomonas* induisent dans les produits laitiers des altérations extrêmement variables telles que : caillés mous, gélation, mauvais rendements fromagers et temps de prise modifiés, apparition de taches rouge à marron en surface des fromages ou colorations jaunes fluo intenses, associées de façon plus ou moins importante à des défaut de goût et de texture (par activités protéolytiques, peptidiques, lipolytiques ou estérasiques) ou à des odeurs fortes (métabolites secondaires). Enfin, il convient de préciser que nombre de bactéries bacilles à gram négatif autrefois

assimilées au genre *Pseudomonas* et désormais reclassés dans d'autres groupes taxinomiques produisent des altérations similaires.

Les *Pseudomonas spp* et apparentés sont donc nettement distincts en quantité et qualité au sein des différentes matrices alimentaires. Concernant la filière laitière, les interrogations relatives à la méthodologie et aux objectifs de dénombrement sont apparues nombreuses et complexes :

- La méthode de dénombrement des *Pseudomonas spp* dans les produits laitiers telle qu'elle est proposée dans le projet de norme ISO/WD 13720 permet-elle de dénombrer les *Pseudomonas spp* dans leur totalité (il en existe actuellement plus de 140 espèces) et si non, permet-elle de dénombrer les *Pseudomonas spp* impliqués dans les phénomènes altératifs relatifs à la production de pigments, d'activités enzymatiques, lipolytiques, estérasiques, caséinolytiques ou autres ?
- La méthode proposée induit-elle un biais dans les résultats en dénombrant des flores "non *Pseudomonas spp* ?".
- Les méthodes de caractérisation des isolats suspectés (test oxydase, test de fermentation du glucose) sont-ils encore pertinents pour caractériser les *Pseudomonas spp* compte tenu de l'évolution des connaissances du genre depuis 1998, date de parution de la norme V 04-504 ?
- Finalement, la méthode préconisée pour le dénombrement des *Pseudomonas spp* dans les viandes et produits carnés est-elle la mieux adaptée au dénombrement des *Pseudomonas spp* dans les produits laitiers ?

### OBJECTIFS DE L'ETUDE

L'objectif de l'étude mise en place a donc été de comparer plusieurs méthodes de dénombrement (milieu, température, durée d'incubation) des *Pseudomonas spp* dans des échantillons représentatifs des principales catégories de fromages. La comparaison porte sur les

valeurs quantitatives de dénombrement mais également

sur les caractéristiques des isolats s'étant développés sur les milieux utilisés.

## MATERIEL ET METHODES

### ► Les fromages

29 fromages ou spécialités fromagères ont été collectés au stade commercialisation en différents points de vente et sous différentes formes (frais emballé, libre service, à la coupe). Ils se répartissent selon les catégories suivantes :

	Lait de vache		Lait de chèvre		Lait de brebis	
	Lait cru	Lait thermisé ou pasteurisé	Lait cru	Lait thermisé ou pasteurisé	Lait cru	Lait thermisé ou pasteurisé
Pâte molle croûte fleurie	N=2	N=1	N=2	N=1	N=1	N=1
Pâte molle croûte lavée et/ou morgée	N=2	N=1				
Pâte pressée non cuite	N=2	N=1	N=1	N=1	N=1	N=1
Pâte pressée cuite	N=1	N=1				
Pâte persillée	N=1	N=1			N=1	
Pâte fraîche		N=5				N=1

Pour chaque fromage et lorsque cela était possible les analyses ont porté sur des échantillons de cœur et de croûte. Dans certains cas, plusieurs lots d'un même type de fromage ont été analysés. Au total, ce sont donc 57 échantillons qui ont fait l'objet de cette étude.

### 1° Etape préalable pour le choix des conditions d'incubation et milieux de dénombrement

#### ► Objectifs

Dans cette étape préliminaire dite de cadrage, il s'agissait de comparer sommairement les résultats de dénombrement des *Pseudomonas* spp et apparentés dans 2 échantillons de fromage (Fromage 1 et Fromage 2). La comparaison a porté sur plusieurs paramètres : les conditions d'incubation (couple temps/température) et le milieu utilisé pour réaliser ce dénombrement (ces milieux et conditions d'incubation ayant été choisis sur la base des données bibliographiques recueillies précédemment).

#### ► Echantillons

Le fromage 1 est un fromage à pâte pressée non cuite au lait de vache, salé en surface puis lavé à plusieurs reprises durant les 4 semaines que dure son affinage. Il présente une flore de surface abondante et très diverse.

Le fromage 2 est un fromage au lait de chèvre à coagulation lactique dont l'affinage est de 6 jours. Sa flore fongique de surface est très abondante mais moins diverse que celle du fromage 1.

Ces 2 fromages sont fabriqués à partir de lait cru et par adjonction de levains sélectionnés.

#### ► Préparation des suspensions mères, dilutions et ensemencements

Pour chaque fromage, 25 g de l'échantillon (surface et cœur) ont été prélevés stérilement et disposés en sac Stomacher pour dilution au 1/10<sup>ème</sup> par addition de 225 mL d'eau peptonée tamponnée. Après broyage durant 1 minute, des dilutions décimales sériées de la suspension ainsi obtenue ont été réalisées en eau peptonée

tamponnée. Les ensemencements en surface des différents milieux gélosés ont été réalisés à l'ensemencement « Spiral » (AES) selon la méthode normalisée V 08-100. Pour chaque dilution l'ensemencement a été fait en triple exemplaire.

#### ► Milieux de culture et incubation

6 milieux de culture élaborés à partir de la gélose base CFC additionnée de différents agents antimicrobiens sélectionnés sur la base de données bibliographiques ont été testés :

- Gélose base CFC sans ajout d'agent antimicrobien
- Gélose base CFC additionnée d'Irgasan (25 mg/l)
- Gélose base CFC additionnée de Nitrofurantoïne (350 mg/l)
- Gélose base CFC additionnée de Ceftriaxone (10 mg/l) et d'acide Nalidixique (10 mg/l)
- Gélose base CFC additionnée du mélange Ceftriaxone (10 mg/l), Fucidine (10 mg/l) et Cephaloridine (50 mg/l). Il s'agit du milieu préconisé dans le projet de norme ISO/WD 13720
- Gélose base CFC additionnée de Penicilline G (100 000 UI) et de Pimaricine (10 mg/l), il s'agit du supplément dit GSP.

Toutes les boîtes ont été incubées en conditions aérobies. 4 températures d'incubation ont été comparées : 4°C, 6°C, 17°C et 25°C.

#### ► Dénombrement

L'observation et la lecture des boîtes de Pétri ont été réalisées après 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 et 11 jours d'incubation. Le dénombrement et l'expression des résultats ont été réalisés selon les préconisations du fabricant de l'ensemencement Spiral et conformément à la norme V 08-100. Des observations supplémentaires ont été réalisées, il s'est agi de la morphologie et différenciation des colonies, la production de pigment, la croissance des moisissures et levures.

## RESULTATS

**A 4°C**, quel que soit le milieu utilisé pour le dénombrement, il faut attendre au minimum 7 jours pour pouvoir détecter des colonies à la surface des boîtes de Pétri. Cependant, l'allure des colonies n'est pas facilement descriptible et aucune production de pigment n'est détectable et ce, même en attendant 10 jours d'incubation.

**A 6°C**, les résultats sont très similaires à ceux décrits précédemment pour une incubation à 4°C, hormis le fait que la production de pigment par certaines des colonies est détectable au bout de 8 jours.

**A 17°C**, des différences apparaissent entre les différents milieux testés. Le milieu à la nitrofurantoïne ne permet pas la production de pigment fluorescent aisément décelable, même après 4 jours d'incubation, il autorise, de plus, un développement abondant des flores fongiques dès 3 jours. Par contre, les autres milieux permettent une différenciation des colonies pigmentées à partir de 48 heures d'incubation, cette différenciation apparaissant très nette au bout de 4 jours d'incubation.

**A 25°C**, les levures et moisissures commencent à se développer abondamment sur les milieux CFC base, CFC + cetrimidide et acide nalidixique, CFC + nitrofurantoïne et CFC + irgasan dès 24 heures après la mise en incubation. Sur le milieu CFC + additifs CFC la croissance des levures et moisissures est apparente dès 48 heures après incubation, tandis que le milieu CFC + supplément GSP semble inhiber complètement le développement des flores fongiques.

Concernant la différenciation des colonies sur la base de production de pigment : hormis le milieu additionné de nitrofurantoïne qui ne permet pas l'observation de fluorescence, tous les autres milieux permettent une nette distinction des colonies pigmentées au bout de 48 heures d'incubation.

### ► Critères quantitatifs

Pour les 2 fromages analysés, les valeurs de dénombrement (non corrigées) variaient entre  $1.9E+03$  à  $5.5E+04$  (fromage 1) et la limite inférieure de détection et  $2.1E+02$  (fromage 2)

**Gélose CFC base sans ajout d'agent antimicrobien** : Elle sert de référence pour comparaison avec les autres milieux. Sans ajout d'agent de sélectivité seuls les paramètres de température et les conditions d'incubation d'aérobie agiront sur la sélection des flores dénombrées

**Gélose CFC base additionnée d'Irgasan (25 mg/l)** : Cette gélose permet une croissance rapide des levures et moisissures et par ailleurs ne permet pas de discriminer les colonies pigmentées. De plus, le taux de recouvrement apparaît nettement inférieur à celui observé pour les autres milieux testés.

**Gélose CFC base additionnée de Nitrofurantoïne (350 mg/l)** : Cette gélose permet une croissance rapide des levures et moisissures et par ailleurs ne permet pas de discriminer les colonies pigmentées. De plus, le taux de

recouvrement apparaît nettement inférieur à ceux observés pour les autres milieux testés.

**Gélose CFC base additionnée de Cetrimide (10 mg/l) et d'Acide Nalidixique (10 mg/l)** : Bien qu'autorisant la différenciation des colonies pigmentées, cette gélose permet un recouvrement des flores recherchées à des taux nettement inférieurs à ceux des autres milieux gélosés. Cette différence est particulièrement importante pour le fromage de fromage 2 qui semble présenter une faible concentration en flore *Pseudomonas spp* et une forte concentration en flore fongique.

**Gélose CFC base additionnée du mélange Cetrimide (10 mg/l), Fucidine (10 mg/l) et Cephaloridine (50 mg/l)** : Il s'agit du milieu préconisé par le projet de norme ISO/WD 13720. Cette gélose présente des caractéristiques qualitatives intéressantes à savoir, une mise en évidence facilitée des colonies productrices de pigment, une bonne inhibition des flores fongiques à 17 et 25°C et un bon développement des colonies permettant la description macroscopiques des colonies (notamment colonies mucoides). Ses potentialités sont à comparer avec celles de la gélose additionnée de supplément GSP.

**Gélose CFC base additionnée du supplément dit GSP** : Cette gélose présente des caractéristiques similaires à celle évoquée précédemment cependant elle présente les avantages additionnels suivants : la croissance des flores fongiques est très ralentie voire inhibée à toutes les températures testées. Le taux de recouvrement est très supérieur notamment en ce qui concerne le fromage 2. Il faut cependant noter que dans ce dernier cas, le développement des colonies est plus lent que sur le milieu précédent.

## CONCLUSION

Pour les 2 fromages analysés, le milieu gélose CFC + additifs GSP offre un meilleur taux de récupération des *Pseudomonas spp* suspectés que les autres milieux testés. Aucun des milieux utilisés ne permet de garantir l'absence de croissance des flores non *Pseudomonas spp*. Cependant, c'est le milieu CFC + additifs GSP qui semble le plus efficace pour limiter le développement des flores fongiques.

Concernant les températures d'incubation, il apparaît clairement que 4°C et 6°C ne permettent une lecture aisée des résultats qu'au bout de 10 voire 12 jours, ce qui semble incompatible avec les contraintes de l'auto-contrôle en secteurs alimentaires.

Les températures de 17°C et 25°C semblent des conditions favorables pour le développement des flores recherchées, elles conduisent à des valeurs de dénombrement identiques pour des durées d'incubation respectives de 72 et 48 heures.

Dans la phase suivante de l'étude c'est donc le milieu gélose base CFC + additifs GSP qui a été testé pour comparaison au milieu gélose préconisé par le projet de norme ISO/WD 13720 et au milieu CFC base (sans agent

antimicrobien). L'incubation des boîtes de Pétri s'est faite à 17°C durant 3 jours, afin de faciliter l'observation macroscopique des colonies.

**2° Comparaison des milieux CFC base + additifs GSP et le milieu CFC base + additifs CFC (projet de norme ISO/WD 13720) pour le dénombrement des *Pseudomonas* spp dans différents fromages et spécialités fromagères.**

#### ► Echantillons et leur préparation

La préparation des échantillons et leur ensemencement ont été réalisés selon le protocole décrit précédemment. Après 3 jours d'incubation à 17°C, les dénombrements ont été réalisés.

#### ► Dénombrement

Pour 14 des 57 échantillons analysés, le milieu CFC + additifs GSP a permis un plus fort taux de recouvrement des *Pseudomonas* suspectés que le milieu proposé par la norme ISO/WD 13720. Les différences varient de 1 à 5,5 log.

Pour 19 des 57 échantillons, les différences de valeurs de dénombrement étaient minimales puisque absentes ou inférieures à 1 log.

Pour 25 des 57 échantillons, les valeurs de dénombrement étaient inférieures aux limites de détection quelle que soit la méthode utilisée.

Enfin, le milieu préconisé par la norme ISO/WD 13720 n'a permis un meilleur taux de recouvrement que dans 1 seul cas, il s'agissait d'un fromage à pâte persillée au lait cru d'origine bovine.

#### ► Conclusion

Il semble, que le milieu CFC additionné des suppléments pénicilline et pimarcine (suppléments dits GSP) permet un recouvrement meilleur des germes suspectés *Pseudomonas* que le milieu CFC + additifs CFC préconisé par la norme ISO/WD 13720. Cependant, à ce stade de l'étude, rien ne permet de savoir si cette flore additionnelle est constituée de *Pseudomonas* spp ou d'autres flores microbiennes. Il faut cependant ajouter qu'aucune moisissure n'a été détectée, dans les conditions de l'étude, sur le milieu base CFC + suppléments GSP.

#### ► Caractérisation des isolats

A partir du milieu CFC additionné de supplément GSP, et lorsque cela était possible, un nombre égal à la racine carrée du nombre total d'isolats a été prélevé de façon aléatoire, les colonies ont été purifiées puis caractérisées selon les critères décrits dans le projet de norme ISO/WD 13720 et selon des critères additionnels liés notamment à leurs activités métaboliques suspectées altératives.

#### ► Réactifs et méthodes : Critères de caractérisation du projet de norme ISO/WD 13720

**Réaction au test oxydase :** réactif N,N,N',N'-tetraméthyl-p-phenylenediamine dichloride à 1g/l dans l'eau déposé sur

papier filtre. En ce qui concerne ce test, et contrairement aux conditions opératoires décrites dans le projet de norme ISO/WD 13720, l'apparition d'une coloration violette a été considérée comme significative d'un test positif après un délai de réponse pouvant aller jusqu'à 1 minute. En effet, nous avons constaté des variabilités importantes sur le délai d'apparition de la coloration violette au sein des isolats étudiés.

**Fermentation du glucose à 25°C** (Composition en g/l : Enzymatic digest of casein (10), yeast extract (1,5), sodium chloride (5), glucose (10), bromocresol purple (0,015), agar (15) : contrairement au protocole décrit dans le projet de norme ISO/WD 13720, l'incubation des milieux a été réalisée à 25°C et non à 37°C ce qui semble plus cohérent pour la caractérisation de micro-organismes psychrotrophes.

#### ► Autres critères :

- **Réaction à la coloration de Gram** (différenciation Gram + / Gram -)
- **Observation microscopique** des micro-organismes (description de leur morphologie) après coloration
- **Croissance à 25°C sur milieu CFC additionné de supplément CFC** après repiquage de la colonie au cure-dent
- **Production de pigment sur gélose King A**
- **Production de pigment sur gélose King B**
- **Croissance à 4°C en 7 jours sur gélose CFC + additifs CFC**
- **Croissance à 41°C en 2 jours sur gélose CFC + additifs CFC**
- **Activité lypolytique** sur gélose à la trybutyrine (incubation à 25°C durant 48 heures)
- **Activité estérasiq**ue sur gélose aux œufs (incubation à 25°C durant 48 heures)
- **Activité caséinolytique** sur gélose au lait (incubation à 25°C durant 48 heures)

*Au total, ce sont 465 isolats qui ont été caractérisés dont 339 pour la totalité des tests précités.*

#### ► Pertinence des milieux

67% des isolats dénombrés sur gélose CFC + additifs GSP sont positifs au test oxydase et ne fermentent pas le glucose et seraient donc considérés comme des *Pseudomonas* spp selon les critères du projet de norme ISO/WD 13720.

77% des isolats prélevés sur gélose CFC + additifs CFC (après isolement sur gélose CFC + additifs GSP et repiquage au cure-dent suivi d'une incubation à 25°C) seraient considérés comme des *Pseudomonas* spp selon les critères du projet de norme ISO/WD 13720.

*Compte tenu du biais méthodologique lié à la non distinction des doublons éventuels, cette différence ne nous paraît pas significative.*

### ► Autres données

25% des isolats provenant de la gélose CFC + additifs GSP et identifiés en tant que *Pseudomonas* spp selon les critères proposés par la norme ISO/WD 13720 sont incapables de pousser sur le milieu CFC + additifs CFC.

*Cette donnée confirme la meilleure pertinence suggérée plus haut du milieu CFC + additifs GSP pour le dénombrement des Pseudomonas spp dans les produits laitiers*

### ► Pertinence des critères de caractérisation

93,5 % des micro-organismes isolés sur gélose CFC base + additifs GSP qui sont positifs au test oxydase et qui ne fermentent pas le glucose sont des bacilles à Gram négatif.

Cette donnée met en évidence que la coloration de Gram et l'observation microscopique n'apportent pas d'éléments supplémentaires suffisamment pertinents pour l'identification de *Pseudomonas* spp isolés de milieux sélectifs utilisés (dans le cas d'une analyse d'auto-contrôle en secteur alimentaire). Ce résultat est en accord avec les données bibliographiques et analyses antérieures qui montrent que la majorité des flores non *Pseudomonas* isolées sur les milieux testés sont des flores bacilles à Gram négatif. Cette remarque est vraie si l'on excepte les levures moisissures qui peuvent à la fois gêner la lecture des boîtes et fausser les valeurs de dénombrement par inhibition compétitive des flores *Pseudomonas* spp.

19 % des micro-organismes isolés sur gélose CFC base + additifs GSP qui ne fermentent pas le glucose sont négatifs au test oxydase.

Ce résultat suggère que le test oxydase est pertinent pour une meilleure différenciation des flores non *Pseudomonas* spp susceptibles de se développer sur les milieux testés.

### ► Caractéristiques additionnelles des isolats

Activité	Ensemble des isolats (1) n= 465	Isolats suspectés <i>Pseudomonas</i> spp (2) 166 < n < 238
Production de pigment sur gélose King A	2 %	3 %
Production de pigment sur gélose King B	24 %	37 %
Croissance à 4°C	34 %	43 %
Croissance à 41°C	52 %	36 %
Activité lipolytique	42 %	42 %
Activité estérasique	44,5 %	57 %
Activité caséinolytique	36,6 %	34 %

(1) Pourcentages obtenus pour l'ensemble des isolats provenant de gélose CFC + additifs GSP.

(2) Pourcentages obtenus pour l'ensemble des isolats provenant de gélose CFC + additifs GSP et identifiés aux *Pseudomonas* spp selon les critères : Bacilles à Gram négatif, qui sont positifs au test oxydase et qui ne fermentent pas le glucose.

Les caractères étudiés, même s'ils sont particulièrement intéressants pour analyser le pouvoir altératif des flores recherchées, ne constituent en aucun cas des critères d'identification des *Pseudomonas* spp.

### Pour répondre aux interrogations posées initialement

- *La méthode de dénombrement des Pseudomonas spp dans les produits laitiers telle qu'elle est proposée dans le projet de norme ISO/WD13720 permet-elle de dénombrer les Pseudomonas spp dans leur totalité (il en existe actuellement plus de 140 espèces) et si non, permet-elle de dénombrer les Pseudomonas spp impliqués dans les phénomènes altératifs relatifs à la production de pigments, d'activités enzymatiques lipolytiques, estérasiques, caséinolytiques ou autres ?*

Compte tenu des données collectées au cours du travail de revue bibliographique et de l'expérimentation, il apparaît que la méthode proposée ne permet pas de dénombrer l'ensemble des *Pseudomonas* spp, elle ne permet pas non plus de dénombrer l'ensemble des *Pseudomonas* spp impliqués dans l'altération des produits laitiers. Cependant il semble utopique de penser qu'une telle méthode de microbiologie classique existe. Il serait cependant intéressant de proposer une méthode de dénombrement à laquelle des modifications pourraient être apportées afin de mettre en évidence des caractères additionnels tels que la production d'activités protéolytiques ou lipolytiques par exemple. Des expérimentations complémentaires nécessiteraient d'être menées en ce sens.

- *Le milieu de dénombrement (milieu CFC base + additifs GSP) présenté ici en alternative à celui proposée par le projet de norme ISO/WD 13720 induit-il un biais dans les résultats en dénombrant des flores "non Pseudomonas spp" ?*

La réponse est oui. Mais nous n'avons trouvé ni dans la bibliographie, ni au cours de nos expérimentations de meilleure méthode sur ce point.

- *Les méthodes de caractérisation des isolats suspectés (test oxydase, test de fermentation du glucose) sont-ils encore pertinents pour caractériser les Pseudomonas spp compte tenu de l'évolution des connaissances du genre depuis 1998 date de parution de la norme V 04-504 ?*

Compte tenu de l'évolution des données taxonomiques relatives au genre *Pseudomonas* spp, il apparaît clairement que les tests préconisés ne sont pas suffisamment pertinents pour discriminer les *Pseudomonas* spp des autres flores couramment isolées sur le milieu testé. Cependant, nous n'avons pas pu mettre en évidence l'existence de tests additionnels pertinents et facilement utilisables en laboratoire d'analyse microbiologique « classique »

**Le milieu CFC base + additifs GSP permet un meilleur recouvrement des germes *Pseudomonas* spp et apparentés dans les fromages testés. Il limite le développement des flores fongiques, permet la mise en évidence de la production de pigments et ne conduit pas au dénombrement plus important de flores non *Pseudomonas* (par comparaison au milieu CFC + additifs CFC).**

**Les critères de caractérisation des flores dénombrées (pour une expression corrigée des résultats) proposés**

par la norme ISO/WD 13720 ne sont pas suffisamment pertinents mais aucun autre ne peut être proposé pour des analyses de routine en laboratoire.

Dr F. Leriche  
(ENITAC)

*Les résultats de ces travaux ont été présentés à Parme en avril 2004 où se tenaient conjointement la semaine analytique FIL (produits laitiers) et la réunion de l'ISO/TC 34 SC9 (tous produits).*

*Pour faire suite à ces travaux, il a été décidé lors de la réunion FIL de lancer une étude de comparaison entre la gélose CFC, la gélose GSP, et ce nouveau milieu (CFC base + additifs GSP), pour tester plus largement ce nouveau milieu dans différents laboratoires et sur*

*différentes matrices de produits laitiers. Ce même protocole présenté à la réunion ISO SC9 a été proposé pour tester d'autres produits alimentaires. Le projet ISO/WD 13720 décrivant une méthode horizontale, il était souhaitable de comparer ces trois milieux sur d'autres matrices.*

*Cette étude est coordonnée par CECALAIT. Le protocole a été diffusé en septembre pour un rendu de résultats au plus tard le 20 février 2005. Chaque laboratoire participant doit réaliser cette comparaison sur ses propres échantillons.*

*Pour plus de renseignements, ou si vous voulez participer à cette étude veuillez contacter Patricia ROLLIER : [p.rollier@cecalait.fr](mailto:p.rollier@cecalait.fr)*