

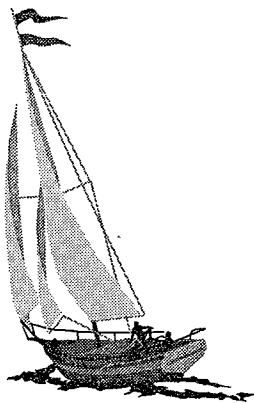
CENTRE D'ETUDES ET DE CONTROLE  
DES ANALYSES EN INDUSTRIE LAITIERE

Juillet 1997

N°23

# LA LETTRE DE CECALAIT

BONNES PRACTIQUES



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

Rédaction achevée le 24 juillet 1997

Equipe rédactionnelle : H. HASNI-PICHARD; V. LAFARGE; O. LERAY; D. LEFIER; Ph. TROSSAT

Relecture par : les auteurs des articles

## SOMMAIRE

Détermination de la teneur en urée par pHmétrie différentielle à l'aide du CL10

Rendez-vous

Nouveautés dans la réglementation

Germes pathogènes : réglementation et méthodes de détection

Validation AFNOR

Normes et projets de normes parus récemment

Du côté de la biblio...

# DETERMINATION DE LA TENEUR EN UREE PAR pHMETRIE DIFFERENTIELLE A L'AIDE DU CL10

(Résumé de l'intervention de M. LEFIER de l'INRA Poligny lors de l'Assemblée Générale de CECALAIT)

De nombreuses méthodes de dosage existent pour déterminer la teneur en urée dans le lait. Celle présentée associe la transformation enzymatique de l'urée en ammoniacque avec la mesure de variation de pH induite, via l'appareil CL10 d'EUROCHEM. Suite à une évaluation du potentiel de l'appareillage, celui présente des performances acceptables permettant d'envisager une solution économique et technique au problème des méthodes enzymatiques (pas de préparation de l'échantillon, peu de réactifs, automatisable)

Cette méthode de dosage de l'urée a été retenue par le groupe FIL E302 pour être étudiée comme méthode de référence internationale possible.

L'appareil CL 10 est un appareil de mesure de pHmètrie différentielle fabriqué par la société EUROCHEM (Italie) et commercialisé par la société FOSS. Cette technique est un intérêt général dont les avantages intrinsèques permettent de la considérer comme une alternative à la spectrophotométrie.

L'étude présentée ne correspond pas à une étude de validation au sens strict, mais la campagne d'analyse menée, à partir d'échantillons disponibles, permet d'évaluer les potentialités de la technique.

Elle a eu lieu à l'INRA de Poligny au laboratoire de physico-chimie pendant les mois de Décembre 1996 et janvier 1997.

*Remarque :* Les différences méthodes de dosage de l'urée dans le lait ont fait l'objet d'un résumé publié dans la Lettre de CECALAIT n°19.

## DESCRIPTION

L'appareil se compose :

- \* d'une chambre de réaction
- \* d'un bloc de mesure thermostaté contenant deux électrodes capillaires de mesure de pH
- \* de deux groupes de pompes péristaltiques,
- \* d'un amplificateur et microprocesseur.

L'ensemble est piloté par un micro-ordinateur annexe.

Le principe de la méthode repose sur la variation de pH induite lors de la transformation enzymatique de l'urée en ammoniacque.

Le dosage s'effectue en deux étapes :

- \* ajout de 20µl de lait dans la cellule et mise à l'équilibre des deux électrodes avec le mélange échantillon-tampon,
- \* ajout de l'enzyme dans la chambre de réaction pour catalyser la réaction, et mesure de la variation de pH entre le mélange échantillon-tampon (électrode 1) et le mélange enzyme-échantillon-tampon (électrode 2).

La différence de pH est directement corrélée à la teneur en urée, via la calibration préalable.

## ESSAIS

La méthode pHmètrie a été comparée à la méthode colorimétrique au DMAB après défécation des protéines au TCA à une concentration finale de 12% et à la méthode enzymatique conformément à la norme NF V04-217. Les travaux ont été effectués en collaboration avec le Laboratoire départemental d'analyses agricoles de Poligny (LDA 39), pour la méthode colorimétrique.

Les échantillons proviennent de différentes origines:

- 79 laits individuels fournis par le LDA 39, analysés en parallèle par la méthode colorimétrique;
- 28 laits de producteurs fournis par l'union des producteurs de Beaufort (Chambéry, Savoie) analysés en parallèle par la méthode enzymatique à la SRTAL;
- 11 laits résultant d'une gamme d'un essai inter-laboratoires CECALAIT et élaborée de telle manière que les teneurs des composants majeurs du lait restent constantes. Là aussi, la détermination de la teneur en urée a été effectuée selon la norme NF V04-217 et ce dans les mêmes conditions que précédemment.

## ① EVALUATION DE LA REPETABILITE-REPRODUCTIBILITE

La répétabilité de la méthode pHmètrie a été évaluée sur la population des 118 laits répartis sur 5 périodes d'analyse au cours des deux mois de mise à disposition de l'appareil.

Dans le but d'une comparaison avec la méthode normalisée, la répétabilité a été estimée sur 39 échantillons.

L'ensemble des résultats est rassemblé dans le tableau 1.

méthode	N	S <sub>r</sub>	caractéristiques de la population de laits analysés			
			moyenne	écart type	minimum	maximum
pH-mètrie	118	0.28	30.04	11.87	9.05	57.71
pH-mètrie	39	0.27	29.10	9.57	18.35	57.71
NF V04-217	39	0.34	29.03	9.74	18.04	57.48

Tableau 1 : Répétabilité sur l'ensemble des laits (en mg/100ml).

N : nombre d'échantillons

S<sub>r</sub> : écart-type de répétabilité

Ces résultats tendent à montrer la bonne répétabilité de la méthode et des écarts entre double non liés à un effet niveau de la teneur en urée. De même, les essais de reproductibilité dans le temps sont tout à fait satisfaisants pour l'appareil, quelque soit la concentration d'urée dans les échantillons.

### ③ INCIDENCE DU CONSERVATEUR

Trois doses de conservateurs ont été testés ainsi que la forme du bronopol; les résultats sont rassemblés dans le tableau 2. Bien que les résultats donnés portent sur un nombre limité de laits, l'augmentation de la teneur en bronopol n'a pas d'effet significatif pour le dosage selon la méthode pHmétrique

CONSERVATEUR		Lait 1	Lait 2	Lait 3	Lait 4
bronopol 0.02%	liquide	33.94	40.34	26.82	41.76
bronopol 0.04%	liquide	33.72	40.76	26.46	41.87
bronopol 0.08%	liquide	34.94	40.48	25.82	41.33
bronopol 0.02%	pastille	34.51	40.12	26.5	41.80

Tableau 2 : Effet du conservateur (en mg/100ml).

### ③ EVALUATION DE LA PRECISION

Dans un premier temps, la méthode pHmétrique est comparée à la méthode colorimétrique. La figure 1 illustre la bonne corrélation entre les deux méthodes, sachant que l'analyse des 79 laits a été effectuée sur trois périodes différentes.

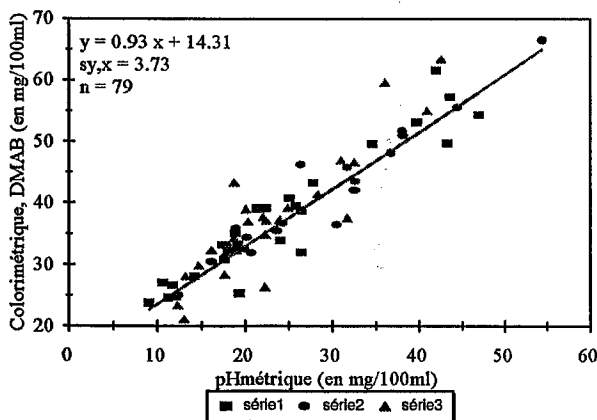


Fig. 1 : comparaison entre la méthode colorimétrique et la méthode pHmétrique.

Dans un second temps, la méthode pHmétrique est comparée à la méthode de référence issue de la norme NF V04-217 (les défécations ont été réalisées le jour de l'analyse en pHmétrique différentielle). Sachant que la répétabilité des déterminations selon les deux méthodes sont équivalentes et conformes aux résultats donnés dans la norme, la figure 2 illustre la bonne précision de la méthode par rapport à la référence. Bien que le principe de mesure soit identique pour les deux méthodes, basé sur le dosage de  $NH_3$  résultant de l'activité de l'uréase introduite dans l'échantillon à doser, ces deux méthodes se discernent par le principe de quantification de cette production de  $NH_3$ .

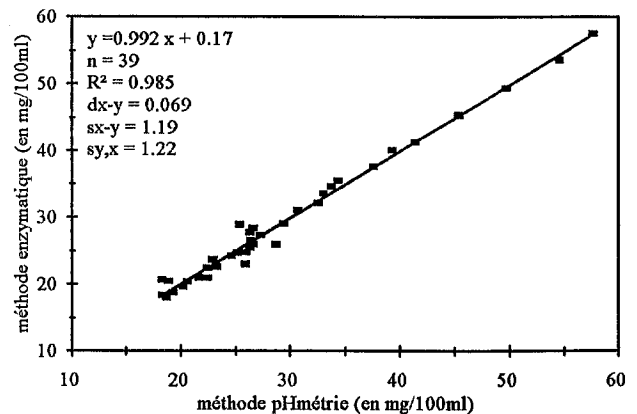


Fig. 2 : comparaison des méthodes enzymatiques et pHmétrique.

### ③ CONCLUSION GENERALE

Bien que l'étude reste partielle, le dosage par pHmétrique peut être considéré comme une méthode de routine prometteuse. Le principe de pHmétrique différentielle peut s'appliquer à d'autres types de dosage tels que le lactose, les acides lactique ou citrique.

#### Références

NF V 04-247 (1992). LAIT ET PRODUITS LAITIERS. Détermination de la teneur en ammoniac et en urée. Méthode enzymatique.

D. LEFIER. Bulletin FIL 135, oct 96. Analytical methods for the determination of urea content in milk.

(par D. Lefier et M.H. Duployer)

## RENDEZ-VOUS

27 AOUT - 1 SEPTEMBRE 1997 : 81E ASSISES ANNUELLES DE LA FIL A REYKAVIK (ISLANDE)

18-19 SEPTEMBRE 1997 : INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ICE CREAM A ATHENES (GRECE)

27-29 OCTOBRE 1997 : INTERNATIONAL WHEY CONFERENCE A CHICAGO (USA)

3-4 NOVEMBRE 1997 : SYMPOSIUM ON CODEX PROCEDURES AND IMPORTANCE A CHICAGO (USA)

Pour tout renseignement, prendre contact avec les organismes suivants :

FIL  
C. Brooks  
41, square Vergote  
B 1040 BRUXELLES  
BELGIQUE  
TEL : +32.2.733.98.88  
FAX : +32.2.733.04.13  
E-mail : fil-idf@mail.interpac.be

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

# NOUVEAUTES DANS LA REGLEMENTATION

## FRANCE

**Arrêté du 28 Mai 1997** relatif aux règles d'hygiène applicables à certains aliments et préparations alimentaires destinés à la consommation humaine.

Ce texte précise le champs d'application : denrées, produits et boissons, destinés à la consommation humaine (voir l'article 1 du décret du 26 avril 1991), et donne des dispositions générales concernant les locaux, équipements, alimentation en eau, personnels, denrées alimentaires, déchets et contrôle-vérifications. Certaines dispositions spécifiques sont détaillées pour les locaux de préparation des aliments et pour les produits végétaux (crus plus spécifiquement) où des critères microbiologiques ont été précisés.

**Arrêté du 17 Avril 1997** modifiant l'arrêté du 18 juillet 1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes.

La principale modification concerne les agents pathogènes du groupe 3, certains sont assortis d'un astérisque indiquant qu'ils peuvent présenter un risque d'infection limité. Deux bactéries ont été ajoutées (*Streptococcus suis*, et *Leptospira interrogans icterohemorragiae*) et un parasite (*Cyclospora cayetanensis*).

## EUROPE COMMUNAUTAIRE

**Règlements n° 716/97 du 23.04.97, 748/97 et 749/97 du 25.04.97 et le rectificatif du règlement 1442/95 du 26.06.95 de la Commission, modifiant respectivement les annexes II et III et les annexes I, II, III et IV du règlement n° 2377/90 du Conseil établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus (LMRs) de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale. (J.O. CE L 106 du 24.04.96, L 110 du 26.04.97 et L 76 du 18.03.97).**

Ces textes complètent la liste des LMRs avec différents agents anti-infectieux, à savoir l'erythromycine avec des LMRs de 40 µg/kg de lait.

**Règlement n° 434/97 du 3.03.97 de la Commission, modifiant le règlement n° 2377/90 du Conseil établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus (LMRs) de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale. (J.O. CE L 67 du 07.03.97).**

Ce texte ajoute un alinéa à l'article 14 du règlement en reportant les dates d'interdiction de l'administration de médicaments vétérinaires concernant des substances actives qui font l'objet

d'un dossier d'établissement de LMR avant le 1<sup>er</sup> janvier 1996, au 1<sup>er</sup> janvier 1998 pour les dérivés du pyrazolidon, les nitroimidazoles, l'acide arsanilique et les phénylbutazone et au 1<sup>er</sup> janvier 2000 pour les autres substances dont la liste sera publiée ultérieurement.

**Règlement n° 658/97 du 16.04.97 de la Commission, modifiant le règlement n° 1854/96 établissant une liste des méthodes de référence à appliquer à l'analyse et à l'évaluation de la qualité du lait et des produits laitiers conformément à l'organisation commune des marchés. (J.O. CE L 100 du 17.05.97).**

Ce texte apporte des précisions sur certaines méthodes :

- Pour les dosages des coliformes dans le beurre et les caséines de tous types, l'échantillon doit être préparé conformément aux normes FIL 122C:1996 ou FIL 73A: 1985.

- Pour les beurres salé et non salé, ajout de la réglementation CEE 2990/82 pour le dosage des matières grasses laitières et de l'eau.

- Pour le lait écrémé et le babeurre, suite au règlement 1105/68, le dosage de la matière grasse, matière sèche et point de congélation s'effectuent selon les normes FIL 122B:1987, 121B:1987 et 108B:1991.

Cette liste est remise à jour chaque année.

**Règlement n° 577/97 du 01.04.97 de la Commission, portant certaines modalités d'application du règlement n°2991/94 du conseil établissant des normes pour les matières grasses tartinables et du règlement n°1898/87 du conseil concernant la protection de la dénomination du lait et des produits laitiers lors de leur commercialisation (J.O. CE L 87 du 02.04.97).**

Il précise les modalités d'indication de la teneur en matière grasse sur les produits couverts par le règlement CE n°2991/94 et apporte une définition plus précise de la dénomination « beurre ».

**Règlement n° 535/97 du 25.03.97 du conseil, modifiant le règlement n° 2081/92 relatif à la protection des indications géographiques et des appellations d'origine des produits agricoles et des denrées alimentaires (J.O. CE L 83 du 25.03.97).**

La principale modification concerne la durée de la protection nationale limitée à 5 ans après la date de publication et selon des conditions précises notamment de commercialisation.

# GERMES PATHOGENES : REGLEMENTATION ET METHODES DE DETECTION

*(Résumé de l'intervention de Mme LAFARGE du CNEVA Paris lors de l'assemblée Générale de CECALAIT)*

L'analyse des germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers fait l'objet d'une série de réglementation à l'échelle française et européenne avec des méthodes de détection pas toujours harmonisées. L'interprétation des résultats pour les critères microbiologiques peut diverger selon les organismes. Cette présentation a permis de faire la synthèse de tous ces points et a apporté des précisions sur la conduite à tenir vis à vis des résultats obtenus.

## REGLEMENTATION

Les laits de consommation et les produits à base de lait lors de leur mise sur le marché doivent répondre à des critères microbiologiques. Ces critères microbiologiques sont définis au niveau européen dans la directive 92/46/CEE du 16 juin 1992 et au niveau français dans l'arrêté ministériel du 30 mars 1994, qui est la transposition en droit français de cette directive, avec quelques modifications. Le tableau 1 indique les produits laitiers pour lesquels les critères microbiologiques ont été modifiés ou apportés par rapport à la directive 92/46/CEE.

Selon l'établissement de transformation, cette nouvelle réglementation est appliquée ou ne l'est pas. On distingue deux

catégories d'établissements :

\* établissements dérogatoires temporaires qui appliquent, jusqu'au 31 décembre 1997, la réglementation nationale antérieure à la directive 92/46/CEE (A.M. du 21.12.79 : laits fermentés., A.M. du 21.06.82 : lait pasteurisé conditionné, A.M. du 15.04.86 : beurre .., A.M. du 21.11.83 : lait stérilisé et UHT, A.M. du 6.08.85 : lait cru);

\* établissements en possession d'un agrément sanitaire qui doivent appliquer l'A.M. du 30 mars 1994

Lors de l'interprétation des résultats, selon l'A.M. appliqué ou selon la nature du produit analysé pour l'A.M. du 30 mars 1994, la tolérance analytique sera appliquée ou ne le sera pas; note de la DGAL N°2686 du 24 octobre 1996 (voir annexe).

types de germes	produits	normes ( ml, g)
<i>Listeria monocytogenes</i>	fromages autres que pâtes dures autres produits à base de lait * (sauf poudre de lait)	absence dans 25g n= 5 et c= 0 absence dans 1g n= 5 et c= 0
<i>Salmonella spp</i>	tous produits à base de lait sauf poudre de lait poudre de lait	absence dans 25g <u>absence dans 1g***</u> n= 5 et c= 0 absence dans 25g <u>absence dans 1g***</u> n= 10 et c= 0
germes à 30°C	produits glacés à base de lait ( y compris glaces et crèmes glacées) <u>autres produits à base de lait**</u>	m = 100000 M = 500000 n = 5 et c = 2  <10 (pour 0,1ml)
<u>coliformes à 30°C (par ml)</u>	Lait cru de vache destiné à la consommation en l'état	m = 100 M = 1000 n = 5 et c = 2
<u>Streptocoques β hémolytiques (pour 0,1 ml)</u>	Lait cru de vache destiné à la consommation en l'état	absence n= 5 et c= 0

**Tableau 1 : critères microbiologiques définis selon la directive 92/46/CEE du 16 juin 1992, modifiée selon les arrêtés : du 30 mars 1994 et du 2 mars 1995.**

\* cette recherche n'est pas obligatoire pour les laits de conserve et les produits à base de lait traités par la chaleur après leur conditionnement ou leur emballage

\*\* critère applicable aux produits à base de lait se présentant sous forme liquide ou gélifiée qui ont subi un traitement UHT ou de stérilisation et qui sont destinés à être conservés à température ambiante.

\*\*\*La recherche des *Salmonelles* doit être effectuée dans 25g et non dans 1g contrairement à ce qui est indiqué dans l'A.M. du 2 mars 95

L'interprétation des résultats, en terme de conformité microbiologique d'un lot a été dictée par une note de service de la DGAL N°8121(13 juillet 1994) précisant les règles de mise sur le marché des laits de consommation et des produits à base de lait.

**Laits de consommation** : Les lots de lait ne peuvent être mis sur le marché que s'ils satisfont à tous les critères qui leur sont applicables. Tous les résultats doivent être « satisfaisants » ou « acceptables ».

## METHODES DE DETECTION

Les méthodes de détection des germes pathogènes sont décrites dans diverses normes. Elles peuvent être classées selon différents critères :

- nature : méthodes traditionnelles (méthodes de dénombrement en milieu solide ou liquide, méthodes de recherche après enrichissement) ou méthodes rapides telles que les méthodes immunologiques, l'impédancemétrie ou les sondes nucléiques-

**Produits à base de lait** : La mise sur le marché des lots est possible dès que les résultats sont « satisfaisants » en *Listeria monocytogenes* et *Salmonella*.

Le critère *Staphylococcus aureus* n'a pas de conséquence réglementaire sur la mise sur le marché des produits sauf pour les fromages au lait cru et au lait thermisé et pour les fromages à pâte molle. En effet, dès que résultat dépasse M, la recherche de la présence d'entérotoxine staphylococcique doit être entreprise, et si la toxine n'est pas mise en évidence, le résultat de l'analyse n'est pas considéré comme défavorable et n'empêche pas la mise sur le marché du lot considéré.

hydratation. Le choix de la méthode rapide est à l'appréciation du laboratoire en fonction du nombre d'échantillon à analyser, du prix de revient de l'analyse, de l'équipement disponible, du personnel en place et de la nature de l'échantillon.

- dimension : nationale (méthode AFNOR) ou internationales (méthodes FIL ou ISO).

Pour les germes pathogènes, l'ensemble des méthodes disponibles est résumé dans le tableau suivant :

	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E.coli enterohemorragique</i>
<b>METHODES TRADITIONNELLES</b>					
Référence	NF ISO 11290-1 (97) FIL 143A (95)	NF ISO 6579 (93) FIL 93B (95)	NF V08-014 (84) FIL 145 (90) FIL 60B (90) NF V08-057-1 (94) NF V08-057-2 (94)	NF V08-017 (80) NF ISO 7251 (94) FIL 170 (94)	cf. FDA Bacteriological Analytical method
Routine	NF V08-055 (93)	NF V08-052 (93)		NF V08-053 (93)	
<b>METHODES RAPIDES</b>					
Validées	- TRANSIA <i>Listeria</i> - VIDAS <i>Listeria</i> - VIDAS <i>Listeria mono.</i> - GENE TRAK <i>Listeria</i> - GENE TRAK <i>Listeria mono</i> - GEN-PROBE - ACCUPROBE <i>Listeria mono</i> - <i>Listeria</i> RAPID TEST - LISTERSCREEN	- <i>Salmonella</i> Rapid Test - Kit TECRA - Kit TRANSIA - Kit LOCATE - <i>Salmonella</i> 1,2 Test - VIDAS <i>Salmonella</i> - <i>Salmonella</i> Tek - Dynal <i>Salmonella</i> - Probelia <i>Salmonella</i> - Gélose RAMBACH		- PETRIFILM <i>E. coli</i> - Milieu « RAPID » <i>E. coli</i>	- DYNABEADS Anti <i>E. coli</i> O157
Autres					-VIDAS <i>E. coli</i> O157 -PETRIFILM HEC -VIP TM <i>E. coli</i> O157:H7 -EZ COLI O157 -Milieu RAINBOW™ AGAR O157

**Tableau 2 : Synthèse des méthodes de détection des principaux germes pathogènes pour l'analyse du lait et des produits laitiers**

La comparaison de ces méthodes de détection pour *Listeria*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *E. coli* sont disponibles auprès de CECALAIT (Transparents de Mme LAFARGE).

Certaines méthodes ont fait l'objet d'études comparatives, en essayant de définir les avantages et les inconvénients. Ainsi pour les méthodes de dénombrement des *E. coli*, les trois méthodes

de référence par la technique de comptage des colonies ont été évaluées (tableau suivant).

Pour les méthodes de dénombrement des *Staphylococcus aureus*, les deux milieux de culture ont été comparés (BP et RPFA); l'ensemble des résultats est présenté dans la Lettre de CECALAIT n°20.

	Avantages	Inconvénients
NF V08-017 (VRBL)		- résultats en 4j - confirmation des colonies
NF V08-053 (PTX)	- résultats en 24h. - pas de confirmation des colonies - bonne spécificité - adaptée aux analyses en série	- pas dénombrement des <i>Escherichia coli</i> $\beta$ glucuronidase négative
FIL 170 (membrane)	- dénombrement des bactéries stressées - bonne spécificité	- méthode contraignante (étape de revivification 4h. à 37°C) - coûteuse

**Tableau 3 : comparaison des trois méthodes de référence pour la détection de *E. coli* par la technique de comptage des colonies**

## CONCLUSION

Dans le domaine de recherche concernant les méthodes d'analyse du lait et produits laitiers, l'unité Hygiène et microbiologie des produits laitiers du CNEVA Paris travaille sur plusieurs axes tels que :

\* Evaluation des méthodes de détection des *Escherichia coli* 0157:H7

\* Etudes de nouveaux bouillons d'enrichissement pour *Listeria*

\* Amélioration de la méthode de préparation des prises d'essais de caséine présure

\* Etude de milieux sélectifs pour staphylocoques.

## ANNEXES

### Liste des arrêtés et des directives

Directive 92/46/CEE du 16 juin 1992 arrêtant les règles sanitaires pour la production et la mise sur le marché de lait cru, de lait traité thermiquement et de produits à base de lait

Directive 94/71/CEE du 13 décembre 1994 modifiant la Directive 92/46/CEE du 16 juin 1992

A.M. du 30 mars 1994 relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire les laits de consommation et les produits à base de lait lors de leur mise sur le marché

A.M. du 2 mars 1995 relatif à l'agrément des centres de collecte, de standardisation ou de traitement du lait et des établissements de transformation du lait et des produits à base de lait.

#### Tolérance analytique appliquée

- A.M. du 21 décembre 1979 : laits fermentés, ...
- A.M. du 21 juin 1982 : lait pasteurisé conditionné
- A.M. du 15 avril 1986 : beurre et corps gras à base de matière grasse butyrique
- A.M. du 30 mars 1994 : fromages, poudre de lait et produits glacés à base de lait (tolérance jusque 3m)

#### Tolérance analytique non appliquée

- A.M. du 21 novembre 1983 : laits stérilisés et laits UHT
- A.M. du 6 août 1985 : lait cru
- A.M. du 30 mars 1994 : tous les produits sauf les fromages, la poudre de lait et les produits glacés à base de lait

### Liste des normes

#### METHODES DE DETECTION DE *LISTERIA MONOCYTOGENES*

NF ISO 11290-1 (1997) - Microbiologie alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Partie 1: Méthode de recherche

FIL 143 A (1995) - Lait et produits laitiers - Recherche de *Listeria monocytogenes*

NF V08-055 (1993) - Microbiologie alimentaire - Recherche de *Listeria monocytogenes* - Méthode de routine

#### METHODES DE DETECTION DE *SALMONELLA*

NF ISO 6579 (1993) - Microbiologie - Directives générales concernant les méthodes de recherche des *Salmonella*

FIL 93B (1995) - Lait et produits laitiers - Recherche des *Salmonella*

NF V08-052 (1993) - Microbiologie alimentaire - Méthode de routine pour la recherche des *Salmonella*

#### METHODES DE DENOMBREMENT DES *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

NF V08-014 (1984) - Microbiologie alimentaire - Directives générales pour le dénombrement de *Staphylococcus aureus* - Méthode par comptage des colonies

FIL 145 (1990) - Lait et produits à base de lait - Dénombrement des *Staphylococcus aureus* - technique de comptage des colonies à 37°C

FIL 60B (1990) - Produits laitiers secs - Dénombrement de *Staphylococcus aureus* - Technique du nombre le plus probable

NF V08-057 -1 (1994) - Microbiologie alimentaire - Méthode de routine pour le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37°C - Partie 1: Technique avec confirmation des colonies

NF V08-057 -2 (1994) - Microbiologie alimentaire - Méthode de routine pour le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37°C - Partie 2: Technique sans confirmation des colonies

## METHODES DE DENOMBREMENT DES *E. COLI*

NF V08-017 (1980) - Microbiologie alimentaire - Directives générales pour le dénombrement des coliformes fécaux et d'*E. coli*

NF ISO 7251 (1994) - Microbiologie - Directives générales pour le dénombrement d'*E. coli* présumés - Technique du nombre le plus probable

FIL 170 (1994) - Lait et produits laitiers- Dénombrement d'*E. coli* présomptifs

- Partie 1: Technique du nombre le plus probable

- Partie 2: Technique du nombre le plus probable à l'aide de 4-méthylumbelliféryl - $\beta$ -D- glucuronide (MUG)

- Partie 3: Technique par comptage des colonies sur membranes à 44°C

NF V08-053 (1993) - Microbiologie - Dénombrement des *E. coli*  $\beta$ -glucuronidase positive par comptage des colonies à 44°C - Méthode de routine

## VALIDATION AFNOR

**M**me Robert de l'AFNOR nous a fourni les informations concernant les dernières méthodes rapides microbiologiques validées. Il s'agit de :

➤ 3M Pétrifilm P2000.H14, H24 TC et H24 Gaz pour la numération des coliformes. Ces trois attestations sont encore à l'état de projet. Nous vous tiendrons au courant dès que possible.

➤ Signalons également que le système Kit Tecra pour la détection des salmonelles distribué par les Laboratoires 3M SANTE voit sa validation prolongée jusqu'en janvier 2001.

➤ Le kit de détection des salmonelles « Salmonella Tek » distribué par Organon Teknika a subi un abandon de validation AFNOR en janvier 1997, sur demande du fabricant.

➤ Le système Pétrifilm de numération des *E. Coli*, distribué par les Laboratoires 3M SANTE voit sa validation prolongée jusqu'en juin 1997.

➤ la société Transia n'a pas souhaité reconduire la validation sur le kit TRANSIA pour la détection des listéria, l'enrichissement ayant été modifié. Néanmoins, le kit « TRANSIA PLATE LISTERIA » (enrichissement ISO FRASER) reste validé par l'AFNOR jusqu'en novembre 1999.

## PROJETS DE NORMES PARUS RECEMMENT

(reçus entre Mai 97 et Juillet 97)

### NORMES AFNOR

**NF V 08-052 Mai 1997 (ICS 07.100.30).** MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Recherche des *Salmonella* : *méthode de routine*

Cette norme remplace le projet de norme du même numéro.

### PROJETS DE NORMES AFNOR

**Projet V 08-401.** MICROBIOLOGIE DES PRODUITS APPERTISES ET ASSIMILES. Contrôle de la stabilité : *méthode de référence*.

Ce projet remplace les normes V 08.401 (1976) et V 08.402 (1977). Une seule norme est établie quelque soit le pH, et la définition des conserves est élargie aux produits appertisés et assimilés. La notion de témoin est abandonnée au bénéfice d'une incubation à 25°C.

**Projet V 08-403.** MICROBIOLOGIE DES PRODUITS APPERTISES ET ASSIMILES. Méthode de prélèvement aseptique en vue de l'analyse microbiologique.

Ce projet remplace la norme V 08-403 (1980) qui a été réactualisée en raison de la révision de la norme NF ISO 7218.

**Projet V 08-408.** MICROBIOLOGIE DES PRODUITS APPERTISES ET ASSIMILES. Contrôle de la stabilité : *méthode de routine*.

Cette méthode présente une simplification de la méthode de référence (V 08.401) par une incubation à 37°C, 7 jours ou 35°C, 10 jours par rapport à 32°C pendant 21 jours; un examen microscopique rendu non systématique et une réduction par moitié du nombre d'individus examinés par lot. Ce document ne vise pas à contrôler la stérilité des produits appertisés et assimilés, ni à celui des produits laitiers.



**Projet V 08-409. MICROBIOLOGIE DES PRODUITS APPERTISES ET ASSIMILES.** Détermination du pH : *méthode de routine.*

Ce projet définit une méthode de routine qui simplifie la méthode de référence NF ISO 11289 essentiellement par la suppression du broyage mécanique.

**Projet V 04-501. VIANDE ET PRODUITS A BASE DE VIANDE.** Préparation de l'échantillon pour essai, de la suspension mère et des dilutions en vue de l'examen microbiologique.

Cette méthode concerne les viandes et produit à base de viande, quelque soit leur état (hormis les conserves) et précise le mode de stockage, les modes de prélèvement fonction de la nature du produit à analyser. La préparation de la suspension mère fait appel à la norme NF 08.010.

Ce document n'est pas équivalent à la norme ISO 3100-2:1988.

**Projet V 04-504. VIANDE ET PRODUITS A BASE DE VIANDE.** Dénombrement des *Pseudomonas* spp.

Par rapport à la version de 1988, il est introduit une possibilité d'un ensemencement en surface, avec incubation à 25°C, et la possibilité d'effectuer l'ensemencement dans une seule boîte de pétri, par dilution, pour des analyses de routine.

Ce document n'est pas équivalent à la norme ISO 13720:1995.

**Projet V 03-130-1 (NF EN 12823-1). PRODUITS ALIMEN-  
TAIRES.** Dosage de la vitamine A par chromatographie liquide haute performance. Partie 1 : dosage du tout trans rétinol et du 13-cis-rétinol.

**Projet V 03-130-2 (NF EN 12823-2). PRODUITS ALIMEN-  
TAIRES.** Dosage de la vitamine A par chromatographie liquide haute performance. Partie 2 : dosage du  $\beta$  carotène.

Ces deux projets reposent sur le même principe : extraction après saponification avec des solvants appropriés, analyse par CLHP sur phase normale pour les composés rétinoliques et phase inverse pour le  $\beta$  carotène. Dans les deux cas, la détection s'effectue soit par fluorométrie, soit par photométrie (UV) et la quantification par étalonnage externe.

**Projet V 03-131 (NF EN 12821). PRODUITS ALIMENTAIRES.** Dosage de la vitamine D par chromatographie liquide haute performance. Dosage du cholécalficérol (D3) et de l'ergocalciferol (D2).

Le principe repose sur une saponification des vitamines puis une extraction solvant. Le dosage s'effectue par le biais d'une CLHP semi-préparative phase normale suivie d'une CLHP analytique phase inverse. La détection s'effectue par spectrométrie UV et le dosage par étalonnage interne.

**Projet V 03-132 (NF EN 12822). PRODUITS ALIMENTAIRES** Dosage de la vitamine E par chromatographie liquide haute performance. Dosage des  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , et  $\delta$  tocophérols.

Le principe repose sur une extraction organique précédée d'une saponification des vitamines puis un dosage par chromatographie sur phase inverse ou normale suivie d'une détection photométrique; le dosage s'effectuant par étalonnage externe

## NORMES FIL

**1D : 1996 (Provisoire). LAIT.** Détermination de la teneur en matière grasse; méthode gravimétrique (méthode de référence).

Quelques points ont été modifiés, par rapport à la version 1C de 1987 :

- Si les réactifs ne satisfont pas aux conditions de pureté exigée, une procédure est décrite pour s'affranchir de ce problème (essai à blanc de tous les réactifs).
- Le préchauffage de l'échantillon pour essai n'est pas nécessaire si l'homogénéité est atteinte à 20°C.
- La vérification de la solubilité dans l'éther de la matière extraite n'est pas indispensable.

Le texte correspond à la référence ISO/CD 1211.

**152A:1997. LAIT ET PRODUITS LAITIERS.** Détermination de la teneur en matière grasse; guide de directives générales appliquées aux méthodes butyrométriques.

Ce texte reprend rigoureusement la norme FIL provisoire 152:1991. il correspond à la référence ISO 11870.

## DU COTE DE LA BIBLIO

Cette fois encore, nous vous fournissons en annexe la liste complète des références intégrées dans 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...