



CENTRE D'EXPERTISE ET DE CONTROLE  
DES ANALYSES LAITIÈRES

2005  
3<sup>ème</sup> trimestre  
N°54

# LA LETTRE DE CECALAIT

<b>Numération des cellules somatiques dans le lait de chèvre</b>	1-4
<b>COEPT l'inter-comparaison d'inter-comparaisons</b>	4-5
<b>Brève : 2 normes de routine AFNOR supprimées</b>	5
<b>Point sur l'activité du groupe de travail "milieu TBX" de la Commission AFNOR V08B "Microbiologie des Aliments" – Partie 1 : constat</b>	6-7
<b>Librairie : nouvelles parutions</b>	7
<b>Normes, projets de normes</b>	8-9
<b>Revue de presse – Revue du net</b>	9-10
<b>Réglementation : France, Union européenne</b>	10-11
<b>Congrès, salons, colloques</b>	11
<b>Validations AFNOR</b>	12
<b>Références bibliographiques avec table des matières, mots clés</b>	annexe

# NUMERATION DES CELLULES SOMATIQUES DANS LE LAIT DE CHEVRE

L'objectif de l'étude était, d'une part, d'étudier et prendre en main la méthode de référence pour la numération des cellules somatiques du lait de chèvre (méthode FDA) et d'autre part, d'étudier les modalités de raccordement des compteurs automatiques.

Les travaux à réaliser ont été les suivants :

- Prise en main de la méthode de référence au laboratoire et comparaison à la méthode vache.
- Détermination des caractéristiques de la méthode de référence (répétabilité)
- Réflexion sur le mode de calibrage des compteurs automatiques
- Réalisation d'échantillons de calibrage spécifiques
- Validation du calibrage (répétabilité et justesse)

L'étude a été réalisée d'avril 2004 à mars 2005 par CECALAIT à la demande de l'interprofession du lait de chèvre (ANICAP) qui en a assuré le soutien financier.

## 1/- ETUDE DE LA METHODE DE REFERENCE

La méthode retenue pour le comptage cellulaire des laits de chèvre est décrite dans le document FDA issu de la publication de Packard et coll. 1992. Il s'agit d'une fixation des cellules puis d'une coloration par du vert de méthyle-pyronine Y, suivi d'un comptage microscopique. La méthode de référence actuellement utilisée pour la numération des cellules somatiques dans le lait de vache, est décrite dans la norme FIL 148. Il s'agit d'une coloration des cellules somatiques par le bleu de méthylène suivi d'un comptage microscopique.

Un essai comparatif de comptages cellulaires entre les méthodes FDA et FIL a été réalisé début avril 2004 sur 2 échantillons de lait de chèvre de mélange.

	Méthode FIL	Méthode FDA
Echantillon 1	591	368
Echantillon 2	902	584

*Résultats comparatifs de comptages cellulaires ( $10^3/ml$ ) entre les méthodes FDA et FIL 148 sur 2 échantillons de lait de chèvre de mélange.*

Il apparaît que les résultats obtenus sur les deux échantillons par la méthode FDA sont globalement inférieurs d'un tiers à ceux obtenus avec la méthode FIL.

Ces résultats plus faibles obtenus par la méthode FDA comparativement à la méthode FIL 148 sont similaires avec de précédentes observations pourraient s'expliquer d'une part, par la non-sélectivité du bleu de méthylène marquant les cellules comme fragments cellulaires et par la présence de nombreuses particules non-cellulaires dans le lait de chèvre due au type de sécrétion lactée apocrine (dégradation de la glande sous forme de particules

cytoplasmiques). Le colorant vert de méthyle-pyronine Y ne présente pas cet inconvénient puisqu'il ne se fixe que sur les particules renfermant de l'ADN et/ou ARN et permet de différencier les cellules intègres à ADN/ARN (couleur bleu-vert) à des fragments cellulaires à ARN (couleur rose).

## **Evaluation de la répétabilité**

Les échantillons utilisés sont des laits de chèvre de mélange en provenance des régions Rhône-Alpes et Poitou-Charentes. Ils ont été collectés conformément aux pratiques de l'interprofession laitière dans le cadre du paiement du lait pendant la période de mai à septembre 2004. Ils ont été additionnés de bronopol incolore à 0,02% et stockés à 4°C jusqu'à l'analyse (délai maximum 5 jours après prélèvement).

Les analyses ont été réalisées à CECALAIT au fur et à mesure des réceptions des échantillons. Ceux présentant des comptages supérieurs à 3000  $10^3/ml$  ont été éliminés. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous (en  $10^3$  cellules /ml).

CLASSE	0-3000	CLASSE 0-1000	CLASSE 1000-2000	CLASSE 2000-3000
N	84	28	48	8
Sr	34	21	27	80
Sr(%)	2,8	2,8	2,0	3,3

*Caractéristiques de répétabilité des numérations cellulaires ( $10^3/ml$ ) sur lait de chèvre par la méthode FDA*

*N : nombre de résultats*

*Sr et Sr (%) : écart type de répétabilité absolu et relatif*

Les résultats obtenus présentent des écarts-type de répétabilité faibles et du même ordre que ceux obtenus par la méthode FIL 148 à partir d'échantillons de lait de vache.

## 2/- ETUDE DU COMPTAGE CELLULAIRE AUTOMATISE

Tous les comptages cellulaires automatisés ont été réalisés par un compteur automatique Bentley SCC 150®, préalablement calibré à partir d'échantillons à teneur garantie (ETG) lait de vache. La technique utilisée est la cytométrie de flux avec discrimination de la hauteur des impulsions selon un seuil variable.

Les résultats obtenus n'apparaissent pas satisfaisants, en effet la moyenne des écarts est faible ( $-5.10^3/ml$ ) mais les écarts-types des écarts et résiduels sont élevés ce qui traduit une forte dispersion des résultats et l'ordonnée à l'origine significativement différente de 0 ( $+80.10^3/ml$ ). Cette dispersion est vraisemblablement à mettre en relation avec l'accumulation de résultats partiels sur une période assez longue (mai à septembre 2004) ainsi qu'aux variations de calibrage de l'analyseur pendant cette période.

C'est pourquoi, le recours à la préparation des ETG spécifiques lait de chèvre a été envisagé pour le calibrage de l'analyseur.

### **Calibrage**

Afin de vérifier la nécessité de l'utilisation d'ETG lait de chèvre, deux séries de 9 échantillons, à teneurs variables en cellules somatiques de zéro à  $1800 10^3/ml$ , ont été réalisées par microfiltration de lait de chèvre de mélange. Les échantillons ont été additionnés de bronopol à 0,1%. Les séries ont été réalisées en novembre 2004 et février 2005.

Ces échantillons ont été analysés en double par la méthode FDA et par comptage automatisé (calibrage lait de vache).

### **Résultats**

Le tableau ci-après présente les résultats obtenus

PARAMETRE	SERIE 1	SERIE 2
d	3	19
Sd	31	30
b(b')	0,974 (0,997)	0,982 (0,974)
a	20	-3
Sy,x(S'y,x)	28 (30)	30 (28)

Paramètres d'étalonnage du compteur cellulaire automatisé Bentley SCC150® à partir d'ETG lait de chèvre.

*d* et *Sd* : moyenne et écart type des écarts appareil-référence

*b* et *b'* : pente de la régression linéaire simple ( $Y = b.X + a$ ) ou forcée par  $a=0$  ( $Y = b'.X$ )

*a* : ordonnée à l'origine de la régression linéaire simple

*Sy,x* et *S'y,x* : écart type résiduel de la régression linéaire simple ou forcée par  $a=0$ .

Les moyennes des écarts sont faibles. Les pentes de régression sont voisines de 1 (différence non significative) et les ordonnées à l'origine sont voisines de 0. Les écarts-types résiduels sont faibles.

On peut remarquer que la relation entre les deux méthodes est stable sur les deux périodes testées.

Globalement les écarts étant faibles, les calibrages proposés à partir d'échantillons de lait de chèvre n'apparaissent pas statistiquement différents de ceux en vigueur à partir d'échantillons de lait de vache.

## 3/- VALIDATION DE L'ETALONNAGE

Une analyse comparative d'échantillons de lait de chèvre par la méthode de référence et la méthode automatisée calibrée à partir de laits de vache a été réalisée afin d'évaluer la justesse des comptages avec ce mode de calibrage.

Les échantillons utilisés ont été réalisés comme précédemment décrit, pendant la période de février et mars 2005.

Ces échantillons ont été analysés en double par la méthode FDA et par comptage automatisé, l'appareil ayant été préalablement calibré à partir d'ETG lait de vache avec une gamme de zéro à  $1800 10^3/ml$ .

### **Résultats**

#### Evaluation de la répétabilité

Le tableau ci-après présente les résultats obtenus (en  $10^3$  cellules /ml).

CLASSE	0-2000	CLASSE 0-1000	CLASSE 1000 - 2000
N	44	24	20
Sr	13	9	17
Sr(%)	1,4	1,3	1,3

Caractéristiques de répétabilité des numérations cellulaires ( $10^3/ml$ ) sur lait de chèvre par comptage automatisé (Bentley SCC150®)

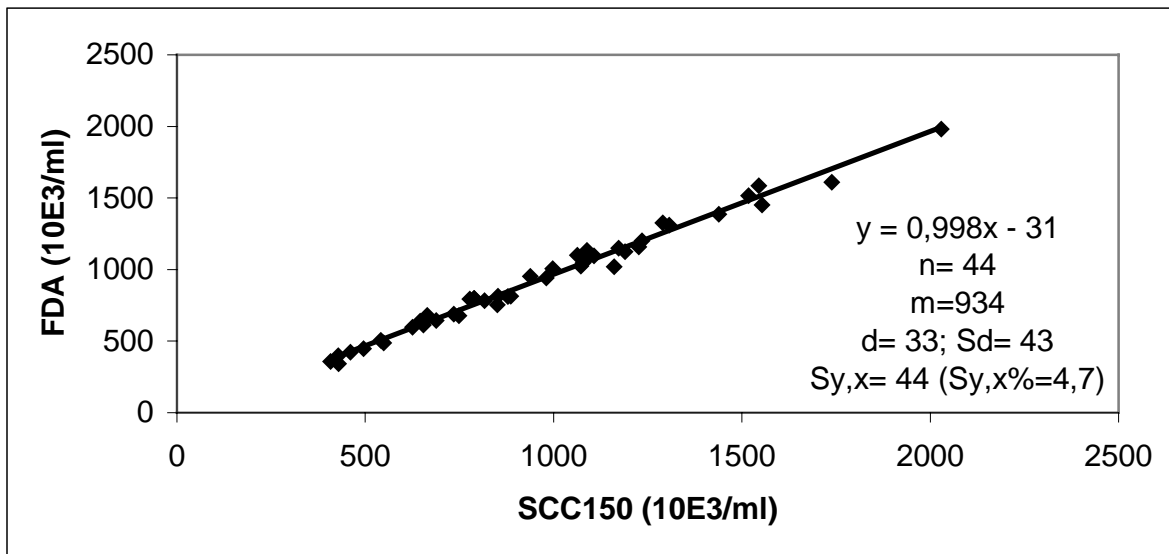
*N* : nombre de résultats

*Sr* et *Sr(%)* : écart type de répétabilité absolu et relatif.

Les résultats obtenus sont bons, en effet les écarts-types de répétabilité sont faibles et inférieurs à ceux obtenus par la méthode de référence. Ils sont inférieurs à ceux observés à partir d'échantillons individuels de lait de vache (2,5% environ) et inférieurs aux 5% recommandés.

## Evaluation de la justesse

La figure ci-dessous présente les résultats obtenus



*Relation linéaire entre les méthodes FDA et Bentley SCC150® sur des échantillons de lait de chèvre de mélange*  
*n : nombre de résultats, m : moyenne des résultats référence ; d et Sd : moyenne et écart type des écarts appareil-référence ;  $Sy,x$  et  $Sy,x\%$  : écart type résiduel de la régression linéaire absolu et relatif*

Au vu des résultats, il apparaît que la moyenne des écarts de 33 10<sup>3</sup>/ml est supérieure à 0 (différence non-significative à 5% près) ce qui montre une bonne concordance globale entre les résultats.

La pente de 0,998 est très proche de 1 (différence non significative) et l'ordonnée à l'origine négative de -31 (différence statistiquement non significative). Ce dernier paramètre peut s'expliquer par l'absence d'échantillons à faible taux cellulaire (inférieurs à 300) ce qui ne permet pas un bon ajustement de l'ordonnée à l'origine.

L'écart type résiduel absolu de 44 (45 pour  $a=0$ ) 10<sup>3</sup>/ml peut paraître élevé mais rapporté au niveau moyen des taux, il n'est plus que de 4,6 % (4,7% pour  $a=0$ ) donc inférieur à celui observé de 6 à 7% lors de l'évaluation de cet appareil sur du lait de vache.

En conclusion, le calibrage réalisé au moyen d'étalons de lait de vache (gamme d'étendue 1800 10<sup>3</sup>/ml) permet d'assurer une justesse satisfaisante pour les numérations cellulaires dans le lait de chèvre.

### **4/- CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Concernant l'utilisation d'ETG lait de chèvre, les résultats obtenus ne montrent pas l'utilité de recourir à de telles préparations spécifiques. En effet, l'étude démontre que le calibrage à l'aide d'étalons lait de vache selon le protocole en vigueur est satisfaisant pour les numérations cellulaires dans le lait de

chèvre. Les résultats peuvent s'expliquer par les raisons suivantes :

Le colorant utilisé pour le comptage automatisé (bromure d'éthydiu) ne se fixe que sur les molécules d'ADN de façon équivalente au colorant utilisé pour la méthode de référence chèvre (vert de méthyle-pyronine Y). Les deux colorants sont donc spécifiques des cellules et débris renfermant de l'ADN et ne se fixent pas sur les particules non cellulaires (présentes dans les laits de chèvre). A l'inverse, le bleu de méthylène utilisé pour la méthode de référence vache colore toutes les particules et son utilisation pour le lait de vache n'est possible que grâce à la quasi-absence de particules non cellulaires.

La sélection des impulsions par la technique du seuillage variable permet de ne retenir que les fortes impulsions en provenance majoritairement des cellules somatiques à l'exclusion des débris cellulaires.

Ainsi, par extrapolation des résultats obtenus avec l'analyseur Bentley SCC150®, on pourrait considérer que la numération des laits de chèvre par comptage automatisé nécessite, d'une part un étalonnage des analyseurs au moyen d'échantillons de lait de vache sur une étendue allant de 0 à 1800 10<sup>3</sup>/ml environ (incluant un contrôle de la linéarité dans cette plage) et, d'autre part, vraisemblablement l'utilisation d'un mode de seuillage variable (différenciation de la hauteur des impulsions). On peut penser que les résultats obtenus sont transposables aux autres

analyseurs présentant les mêmes fonctionnalités et performances.

Enfin, du fait de l'évolution des types cellulaires présents dans le lait de chèvre au cours de la lactation, il serait intéressant de vérifier la stabilité de la relation entre les résultats obtenus par la méthode de référence lait de chèvre d'une part, et les comptages automatisés avec un calibrage lait de vache, d'autre part.

## BIBLIOGRAPHIE

QUERVEL X., TROSSAT Ph. **Rapport d'étude sur la numération cellulaire du lait de chèvre**, CECALAIT, Mai 2005

PACKARD VS & Coll. 1992, "**Direct microscopic methods for bacterial or somatic cells**" in Standards method for the examination of dairy products. American Public Health Association, Washington, DC, p. 309-325

---

## **COEPT L'INTER-COMPARAISON D'INTER-COMPARAISONS**

*Résumé de l'intervention de Dr Piotr ROBOUCH (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM, Geel, Belgique) lors de l'assemblée générale 2005*

**La participation aux essais d'aptitude, requise par les accréditeurs, les autorités législatives, les clients..., est obligatoire pour les laboratoires. Ils participent souvent à plusieurs essais d'aptitude provenant de différents organisateurs, ce qui entraîne un surcroît des coûts (tant au niveau du temps qu'au niveau des frais de participation) et des restrictions en ce qui concerne le libre échange.**

**COEPT (the Comparability of the Operating and Evaluation of European Proficiency Testing schemes) est un programme européen d'évaluation et de comparaison des protocoles mis en œuvre par les organismes organisateurs d'essais d'aptitude. 17 partenaires ont participé à ce projet thématique européen 2003-2005. Il a réuni environ 30 organisateurs d'essais d'aptitude sur 4 secteurs d'activité (eau, sol, alimentaire et sécurité & hygiène). Trois séminaires de travail se sont tenus à Berlin (février 03), Geel (octobre 2003) et Eden (février 2005), et deux inter-comparaisons ont été réalisées.**

### **La 1<sup>ère</sup> inter-comparaison**

Elle avait pour objectif :

- d'évaluer les similarités ou différences des protocoles statistiques appliqués par les organisateurs d'essais d'aptitude et l'influence sur la valeur de référence, l'incertitude, l'écart-type...,
- d'évaluer la capacité des protocoles à faire face à des difficultés concernant un jeu de données (bimodalité ou dissymétrie par exemple),
- de comparer l'évaluation de la performance.

En ce qui concerne le secteur alimentaire, 5 organisateurs d'essais d'aptitude ont participé à cette inter-comparaison. 11 jeux de données portant sur la matière grasse, les protéines, l'humidité, le lactose et les cendres dans le lait sec ont été transmises aux organisateurs pour traitement statistique. Les évaluations réalisées ont été rendues à COEPT pour

comparaison (moyenne, écart-type de la valeur de référence, évaluation).

Au regard des résultats transmis, il est apparu qu'il y a une bonne concordance entre les 5 organisateurs d'essai d'aptitude dans ce secteur. Cependant, l'estimation de l'incertitude associée aux valeurs assignées est un point qui nécessite une grande attention. En effet, bien que 3 organismes sur 5 fournissent ce paramètre, l'étendue observée entre les estimations est assez élevée.

### **La 2<sup>ème</sup> inter-comparaison**

Elle a été menée entre février et novembre 2004. Ses objectifs étaient :

- d'étudier la performance des protocoles statistiques des organisateurs d'essais d'aptitude dans un cas réel,
- d'observer si les résultats de la 1<sup>ère</sup> inter-comparaison étaient confirmés lors de l'utilisation d'un matériau de référence dans un essai d'aptitude,

- d'évaluer l'équivalence des valeurs de référence,
- d'étudier l'évaluation faite par les organisateurs d'essais d'aptitude.

5 organisateurs d'essais d'aptitude ont participé à cette inter-comparaison (RELACRE, MUVA, CECALAIT, FAPAS, QM). Un échantillon d'un matériau de référence (lait sec produit par un des

organisateur de l'étude) a été envoyé aux laboratoires participant à l'inter-comparaison (172 laboratoires au total), organisée sur 5 mesurandes : matière grasse, matière sèche, lactose, protéines et cendres.

Après analyse et comparaison des résultats par le COEPT, il apparaît qu'il y a globalement un bon accord entre les valeurs assignées déterminées par les organisateurs et également avec les valeurs de référence du matériau de référence fourni.

Valeur certifiée		Valeur assignée							
		Ecart type							
		F01	F02	F03	F04	F05	Moyenne	Ecart type	Ecart type relatif
Cendres	5.64 0.04	5.67 0.05	5.66 0.07	5.64 0.04		5.64 0.05	5.65	0.01	0.3%
Humidité	96.11 0.11	96.3 0.2	96.2 0.2	96.1 0.2	96.2	96.1 0.1	96.2	0.1	0.1%
MG	26.03 0.11	26.0 0.1	25.8 0.5	26.0 0.2	26.0	26.0 0.1	26.0	0.1	0%
Lactose	37.64 0.45	23.8 0.6	35.4 1.1	37.6 0.5	36.7	37.6 0.8	34.8	5.5	15.7%
Protéine	26.65 0.09	26.09 0.30	26.60 0.85	26.65 0.17	26.87	26.65 0.28	26.58	0.26	1.0%

Cependant, il a été constaté au cours de l'examen des résultats bruts, des écarts dus à la définition et compréhension même du mesurande :

- humidité et matière sèche
- azote et protéine
- lactose monohydrate et anhydre

L'expression des résultats dans les bonnes unités a permis l'obtention d'une concordance totale sur les mesurandes entre les valeurs assignées déterminées.

Dans le cas de la détermination du lactose seulement, la valeur assignée d'un organisateur a été identifiée comme non concordante avec les autres valeurs assignées et la valeur de référence du matériau envoyé. Après étude, il est apparu que cet écart était

attribuable au fait que la valeur assignée provenait des résultats d'un seul laboratoire participant.

### Conclusion

Pour conclure, il apparaît qu'il existe une bonne concordance entre les participants en ce qui concerne les valeurs assignées sur des jeux de données artificiels ou lors d'une intercomparaison réelle. Par contre, il est apparu qu'il était nécessaire d'améliorer et harmoniser la définition et la compréhension des critères afin que les résultats soient exprimés dans les mêmes unités. Enfin, la mise en place de l'estimation de l'incertitude sur les valeurs assignées semble indispensable.

Ph. TROSSAT

## BREVE

### 2 NORMES DE ROUTINE AFNOR SUPPRIMEES

Après plusieurs réunions sur ce sujet, les membres de la commission AFNOR V08B (Microbiologie des aliments) ont pris la décision d'annuler les 2 normes de routine concernant la recherche de *Listeria monocytogenes* (NF V08-055) et la recherche de *Salmonella* (NF V08-052). Toutefois cette décision ne prendra effet qu'à partir de juin 2006.

# POINT SUR L'ACTIVITE DU GROUPE DE TRAVAIL "MILIEU TBX" DE LA COMMISSION AFNOR V08B "MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS"

## PARTIE 1 : CONSTAT

Les géloses tryptone-bile-glucuronide (TBX) et peptone-tergitol-glucuronide (PTX) sont des milieux chromogènes de même principe qui permettent la numération des *E. coli* par leur caractère positif pour la  $\beta$ -D-glucuronidase, présente dans environ 95% des *E. coli* des produits alimentaires, le sérotype pathogène O157:H7 en est par exemple dépourvu.

Décrit depuis 1993 dans une norme de routine au niveau national (NF V08-053), le milieu PTX semblait poser des problèmes de sélectivité. En effet, le tergitol 7, agent sélectif de ce milieu, est connu pour son manque de sélectivité. Par la suite, la non-commercialisation du tergitol 7, a contribué au remplacement fin 2002 du milieu PTX par le milieu TBX. Ce milieu était déjà normalisé au niveau international depuis 2001 (ISO 16649 parties 1 et 2) et avait été choisi suite à la réunion ISO SC9 en 1997, où avaient été présentées des comparaisons entre différents milieux chromogènes sur différentes matrices. Au regard de ces résultats, le milieu TBX ne semblait cependant pas avoir des performances nettement supérieures aux autres milieux chromogènes.

Suite à l'utilisation de ce nouveau milieu, plusieurs laboratoires ont rencontré des difficultés, en particulier pour l'analyse des produits laitiers. Ces observations sont reprises dans ce premier article. Un second article fera le point sur l'activité du « groupe de travail TBX » créé suite à ces constats.

### 1) PROBLEMES RENCONTRES DANS DIFFERENTS LABORATOIRES

#### 1.1 Comparaison entre les milieux PTX et TBX

Début 2003, lors de la mise en place du nouveau milieu normalisé TBX à la place du milieu PTX, 2 laboratoires analysant des produits laitiers nous ont alertés de résultats discordants entre ces géloses.

#### - Résultats obtenus dans des échantillons naturellement contaminés :

Le laboratoire L1 a comparé les résultats obtenus sur TBX et PTX d'un même fournisseur (E) sur 25 échantillons de lait cru. Globalement, ce laboratoire a observé une forte inhibition avec le milieu TBX dans le lait cru (-0,7 log en moyenne). Par contre, les colonies n'ont pas été identifiées.

Le laboratoire L2 a comparé les numérations obtenues avec 5 fournisseurs de TBX prêt à l'emploi par rapport à un milieu PTX sur des échantillons de fromages en majorité au lait cru. Globalement, peu de différences ont été observées (en moyenne +/- 0,1 log selon le fournisseur), mais sur un lot d'un fournisseur de TBX (B), les colonies étaient non dénombrables car peu ou pas visibles, alors que des numérations importantes étaient obtenues sur le milieu PTX et sur 2 autres milieux TBX. A noter que ce lot était proche de la date limite d'utilisation.

#### - Résultats obtenus dans les échantillons des essais d'aptitude CECALAIT :

#### Essai d'aptitude *E. coli* dans le lait de février 2003 (5 échantillons) :

Le laboratoire L1 a testé différents fournisseurs pour les milieux TBX et PTX. Les 2 milieux PTX donnaient des résultats situés dans la cible de conformité (+/- 0,3 log par rapport à la référence), alors que les 3 milieux TBX ont donné en moyenne une sous estimation importante (- 0,4 à - 0,8 log).

Le laboratoire L2 a comparé 4 fournisseurs différents de TBX et un de PTX, un seul milieu TBX (fournisseur C) était hors limite (- 0,4 log en moyenne).

Le laboratoire CECALAIT a obtenu par contre des résultats identiques et dans la cible de conformité en utilisant des milieux TBX et PTX du même fournisseur (A) à partir de milieu déshydraté. Avec du milieu TBX du même fournisseur notre laboratoire a toujours obtenu de bons résultats dans les essais d'aptitude.

#### Essai d'aptitude *E. coli* dans le fromage de décembre 2002 (5 échantillons) :

Le laboratoire L1 avait comparé encore une fois les milieux TBX et PTX du même fournisseur (E) : PTX était dans la cible de conformité, alors que TBX sous-estimait en moyenne de 0,9 log par rapport à la référence.

## 1.2 Autres problèmes rencontrés dans les essais d'aptitude CECALAIT

Par la suite, d'autres laboratoires nous ont fait part de difficultés de numération avec le milieu TBX dans les essais d'aptitude. Par exemple le diluant tampon phosphate utilisé en association avec le milieu TBX peut avoir un effet inhibiteur, cet effet n'est pas observé avec le diluant Ringer au ¼ ou sur d'autres matrices.

Ces problèmes sont plus souvent rencontrés dans les milieux prêts à l'emploi que dans ceux préparés à partir de milieu déshydraté, et peuvent concerner tous les milieux proposés par les différents fournisseurs bien qu'apparaissant ponctuellement en fonction des lots utilisés.

### 2) INTERPRETATION GLOBALE DES ESSAIS D'APTITUDE CECALAIT

*Note : les essais d'aptitude permettent d'évaluer les performances d'un laboratoire mais non pas la performance d'une méthode ou d'un fournisseur. Néanmoins, cette vision globale peut nous alerter sur des tendances générales.*

A partir de juin 2003, où l'utilisation dans les laboratoires du milieu TBX a commencé à se généraliser, nous avons constaté globalement une dispersion plus forte des résultats des essais

d'aptitude *E. coli*, et de façon plus sensible dans le fromage que dans le lait. Avec le milieu PTX, d'une manière générale, les résultats étaient plus regroupés.

Nous avons donc essayé d'interpréter plus en détail les essais d'aptitude *E. coli* dans le fromage. Nous avons ainsi observé pour le milieu TBX un pourcentage plus important de résultats hors cible que pour les autres milieux, et généralement en sous estimation. En repérant les fournisseurs sur les cibles il n'a pas été possible de montrer un effet fournisseur constant dans le temps. De même la sous estimation des milieux prêts à l'emploi par rapport aux formules déshydratées n'a pas été franchement démontrée. Cependant, les dernières observations tendent à montrer que la situation a tendance à s'améliorer.

Suite à ces constats, la commission V08B a décidé de créer un groupe de travail pour regrouper ces observations, les étudier et essayer d'y apporter des solutions. Organisé par l'AFNOR, ce groupe de travail animé par P. ROLLIER de CECALAIT regroupe une dizaine de membres fournisseurs ou utilisateurs et s'est réuni 3 fois entre 2004 et 2005. Les activités et conclusions de ce groupe seront exposées dans la seconde partie de cet article dans la Lettre de CECALAIT du trimestre prochain.

P. ROLLIER

## LIBRAIRIE : NOUVELLES PARUTIONS

Le classement par ordre alphabétique du premier mot-clé vous permet de consulter les références en fonction de vos centres d'intérêts. L'adresse postale ou internet vous permet soit d'en savoir plus, soit de commander un ouvrage ou de le télécharger.

### LAIT

DEBRY G. – **Lait, nutrition et santé** – Edition Tec & Doc– ISBN 2-7430-0819-9 – 566 p.

Cet ouvrage présente les caractéristiques physico-chimiques et nutritionnelles du lait et ses composants. Il expose également l'influence des traitements technologiques sur ces propriétés nutritionnelles. De plus, il fait le point sur l'hygiène et la sécurité dans la filière laitière et fait une synthèse relative à la consommation du lait en France. <http://www.tec-et-doc.com>

### LAIT / PRODUIT LAITIER

CNIEL – **L'économie laitière en chiffres, édition 2005**– Edition Cniel – 200 p.

Ce recueil réalisé par l'interprofession laitière synthétise les données chiffrées des différentes branches de la filière laitière au niveau national, européen et mondial. <http://www.cniel.com>

### TECHNOLOGIE / LAIT / PRODUIT LAITIER

WALSTRA P.; WOUTERS J.T.M.; GEURTS T.J. – **Dairy Science and Technology, second edition**– Edition crcpress – ISBN 0-8247-2763-0 – 808 p.

Ce livre fournit des informations relatives à la composition et aux propriétés du lait. Il présente également les caractéristiques du lait et des produits laitiers pendant la fabrication et la conservation. <http://www.crcpress.com>



## **NORMES, PROJETS DE NORMES**

Classement alphabétique par thème (partie grisée)

### **1.1 - Projets de normes AFNOR**

<b>FROMAGES ET FROMAGES FONDUS</b>		
FROMAGE / FROMAGE FONDU CHLORURES	Projet NF V 04-289 (PR NF EN ISO 5943) septembre 2005	FROMAGES ET FROMAGES FONDUS Détermination de la teneur en chlorures – Méthode par titrage potentiométrique
<b>HYGIENE</b>		
HYGIENE / HACCP DENREES ALIMENTAIRES	Projet NF V 01-001 septembre 2005	HYGIENE DES DENREES ALIMENTAIRES ET DES ALIMENTS POUR ANIMAUX Methodologie pour l'élaboration des guides de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP
<b>LAIT</b>		
LAIT / QUALITE BACTERIOLOGIQUE	Projet NF V 04-055 (PR NF EN ISO 21187) juillet 2005	LAIT Mesure quantitative de la qualité bactériologique – Lignes directrices pour établir et vérifier une relation de conversion entre les résultats de la méthode de routine et les résultats de la méthode d'ancrage
<b>LAIT ET LAIT EN POUDRE</b>		
LAIT / LAIT EN POUDRE AFLATOXINE / HPLC / CHROMATOGRAPHIE	Projet NF V 04-175 (PR NF EN ISO 14501) juillet 2005	LAIT ET LAIT EN POUDRE Détermination de la teneur en aflatoxine M1 – Purification par chromatographie d'immunoaffinité et détermination par chromatographie en phase liquide à haute performance
<b>MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS</b>		
ANALYSES MICROBIOLOGIQUES	Projet NF V 08-002 (PR NF EN ISO 7218) août 2005	MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Recommandations et règles générales pour les examens microbiologiques

### **2.1 - AFNOR normes parues**

<b>MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS</b>		
<i>E. COLI</i> / METHODE HORIZONTALE	NF V 08-020 (NF ISO 7251) juillet 2005	MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Méthode horizontale pour le dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> présumés– Technique du nombre le plus probable
<i>BACILLUS CEREUS</i> / METHODE HORIZONTALE	NF V 08-023 (NF EN ISO 7932) juillet 2005	MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS Méthode horizontale pour le dénombrement de <i>Bacillus cereus</i> présumptifs – Technique par comptage des colonies à 30°C
<b>STATISTIQUES</b>		
STATISTIQUES	NF X 06-040-6 (NF ISO 16269-6) juillet 2005	INTERPRETATION STATISTIQUE DES DONNEES Partie 6 : détermination des intervalles statistiques de tolérance

## 2.2 - ISO normes parues

<b>LAIT ET LAIT CONCENTRE NON SUCRE EN BOITE</b>		
LAIT / LAIT CONCENTRE  ETAIN / SPECTROMETRIE	ISO/TS 9941 : 2005  juin 2005	LAIT ET LAIT CONCENTRE NON SUCRE EN BOITE  Détermination de la teneur en étain – Méthode spectrométrique
<b>LAIT ET LAIT EN POUDRE</b>		
LAIT / LAIT EN POUDRE  AFLATOXINE / CHROMATOGRAPHIE	ISO 14674 : 2005  mai 2005	LAIT ET LAIT EN POUDRE  Détermination de la teneur en aflatoxin M1 – Purification par chromatographie d'immunoaffinité et détermination par chromatographie sur couche mince
<b>LAIT ET PRODUITS LAITIERS</b>		
LAIT / PRODUITS LAITIERS /  QUALITE	ISO 14461-1 : 2005  mai 2005	LAIT ET PRODUITS LAITIERS  Contrôle de qualité en laboratoires microbiologiques  Partie 1 : évaluation de la performance des analystes effectuant les comptages de colonies
<b>QUALITE</b>		
QUALITE /  ETALONNAGE / ESSAIS	ISO 17025 : 2005  mai 2005	Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais
<b>YAOURT</b>		
YAOURT /  MATIERE SOLIDE	ISO 13580 : 2005  mai 2005	YAOURT  Détermination de la teneur totale en matières solides (méthode de référence)

## REVUE DE PRESSE – REVUE DU NET

### Classement alphabétique des mots-clés

#### **BACTERIE / LISTERIA**

##### **Scientists develop fast bacteria detector**

<http://www.foodnavigator.com/news/news-ng.asp?n=61072-scientists-develop-fast>

► Des scientifiques américains ont mis au point un appareil par cytométrie de flux capable d'analyser et d'identifier avec justesse les bactéries *Listeria monocytogenes* et *Candida albicans*.

#### **ENTEROTOXINES / PRODUITS LAITIERS**

##### **Note de service de la DGAL : DGAL/SDSSA/SDRRCC/N2005-8194 du 27 juillet 2005**

<http://www.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/dgaln20058194z.pdf>

► Note de service relative aux techniques de détection et d'identification des entérotoxines staphylococciques dans les produits laitiers.

#### **FROMAGE / pH**

##### **Système d'injection de CO<sub>2</sub> pour maîtriser le pH,** Process, juin 2005, n° 1216, p. 76

► La société Technica a mis au point un système d'injection de CO<sub>2</sub> dédié aux industries fromagères et laitières.

#### **FROMAGE / REGLEMENTATION**

##### **Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet de décret relatif aux fromages et spécialités fromagères**

<http://www.afssa.fr/Ftp/Afssa/30384-30385.pdf>

► Cet avis présente les modifications à faire pour que ce projet de décret reçoive un avis favorable de la part de l'AFSSA.

<http://www.fao.org/newsroom/fr/news/2005/105110/index.html>

► La Commission du Codex Alimentarius a adopté, lors de sa session annuelle, une vingtaine de normes alimentaires nouvelles ou modifiées.

## NORMALISATION

### Le Codex adopte plus de 20 normes alimentaires

## NOUVEAUTES DANS LA REGLEMENTATION : FRANCE

Dans les tableaux suivants, le classement est établi par ordre alphabétique du premier mot-clé

APPELLATION D'ORIGINE CONTROLEE / FROMAGE
<b>J.O. n° 218 du 18 septembre 2005</b> – Décret du 13 septembre 2005 relatif à l'appellation d'origine contrôlée "Bleu de Gex haut Jura" ou "Bleu de Septmoncel" <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRP0500336D">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRP0500336D</a>
CERTIFICATION / FROMAGE
<b>J.O. n° 186 du 11 août 2005</b> – Arrêté du 19 juillet 2005 portant complément d'agrément d'un organisme certificateur <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRG0501710A">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRG0501710A</a>
HYGIENE / HACCP
<b>J.O. n° 138 du 15 juin 2005</b> – Avis aux professionnels de l'alimentation relatif aux guides de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=ECOC0500094V">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=ECOC0500094V</a>
NOMINATION / LAIT / PRODUITS LAITIERS
<b>J.O. n° 176 du 30 juillet 2005</b> – Arrêté du 8 juillet 2005 portant nomination au conseil de direction de l'Office national interprofessionnel du lait et des produits laitiers <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRP0501588A">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRP0501588A</a>
<b>J.O. n° 184 du 9 août 2005</b> – Arrêté du 21 juillet 2005 portant nomination au conseil spécialisé pour le secteur "lait de chèvre" de l'Office national interprofessionnel du lait et des produits laitiers <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRP0501697A">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRP0501697A</a>
<b>J.O. n° 202 du 31 août 2005</b> – Arrêté du 19 août 2005 portant nomination au comité interprofessionnel du gruyère de Comté <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRP0501732A">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=AGRP0501732A</a>
NORMALISATION
<b>J.O. n° 153 du 2 juillet 2005</b> – Avis relatif à l'homologation et à l'annulation de normes <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=INDI0510033V">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=INDI0510033V</a>
<b>J.O. n° 154 du 3 juillet 2005</b> – Avis relatif à l'homologation et à l'annulation de normes <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=INDI0510030V">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=INDI0510030V</a>
<b>J.O. n° 174 du 28 juillet 2005</b> – Avis relatif à l'homologation et à l'annulation de normes <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=INDI0510037V">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=INDI0510037V</a>
<b>J.O. n° 175 du 29 juillet 2005</b> – Avis relatif à l'instruction de projets de normes <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=INDI0510035V">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=INDI0510035V</a>
<b>J.O. n° 192 du 19 août 2005</b> – Avis relatif à l'instruction de projets de normes <a href="http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=INDI0510046V">http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/UnTexteDeJorf?numjo=INDI0510046V</a>

# NOUVEAUTES DANS LA REGLEMENTATION : UNION EUROPEENNE

Le classement est établi par ordre alphabétique du premier mot-clé

<b>APPELLATION D'ORIGINE PROTEGEE</b>
<b>J.O.U.E. L 214 du 19 août 2005</b> – Règlement (CE) n° 1357/2005 de la Commission du 18 août 2005 complétant l'annexe du règlement (CE) n° 2400/96 en ce qui concerne l'enregistrement d'une dénomination dans le "Registre des appellations d'origine protégées et des indications géographiques protégées" [Chevrotin (AOP)] <a href="http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_214/l_21420050819fr00060008.pdf">http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_214/l_21420050819fr00060008.pdf</a>
<b>INGREDIENT ALIMENTAIRE</b>
<b>J.O.U.E. L 160 du 23 juin 2005</b> – Décision de la Commission du 4 avril 2005 autorisant la mise sur le marché de l'isomaltulose en tant que nouvel aliment ou nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) n° 258/97 du Parlement européen et du Conseil <a href="http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_160/l_16020050623fr00280030.pdf">http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_160/l_16020050623fr00280030.pdf</a>
<b>MEDICAMENTS VETERINAIRES / LMR / ALIMENTS</b>
<b>J.O.U.E. L 185 du 16 juillet 2005</b> – Règlement (CE) n° 1148/2005 de la Commission du 15 juillet 2005 modifiant l'annexe I du règlement (CEE) 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 en ce qui concerne le pénéthamate <a href="http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_185/l_18520050716fr00200021.pdf">http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_185/l_18520050716fr00200021.pdf</a>
<b>J.O.U.E. L 206 du 9 août 2005</b> – Règlement (CE) n° 1299/2005 de la Commission du 8 août 2005 modifiant les annexes I et III du règlement (CEE) 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 en ce qui concerne les substances suivantes : phénoxyéthylpénicilline, phoxime, norgestomet et thiamphénicol <a href="http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_206/l_20620050809fr00040007.pdf">http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_206/l_20620050809fr00040007.pdf</a>
<b>J.O.U.E. L 214 du 19 août 2005</b> – Règlement (CE) n° 1356/2005 de la Commission du 18 août 2005 modifiant l'annexe I du règlement (CEE) 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 en ce qui concerne les substances suivantes : l'acide oxilinique et le morantel <a href="http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_214/l_21420050819fr00030005.pdf">http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_214/l_21420050819fr00030005.pdf</a>
<b>J.O.U.E. L 2414 du 20 septembre 2005</b> – Règlement (CE) n° 1518/2005 de la Commission du 19 septembre 2005 modifiant les annexes I et III du règlement (CEE) 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 en ce qui concerne l'acétylisovaléryltylosine et le fluazuron <a href="http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_2414/l_241420050920fr00110012.pdf">http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_2414/l_241420050920fr00110012.pdf</a>
<b>PESTICIDES / RESIDUS</b>
<b>J.O.U.E. L 177 du 9 juillet 2005</b> – Directive 2005/46/CE de la Commission du 8 juillet 2005 modifiant les annexes des directives 86/362/CEE, 86/363/CEE et 90/642/CEE du Conseil en ce qui concerne les teneurs maximales pour les résidus d'amitrazé <a href="http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_177/l_17720050709fr00350041.pdf">http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/fr/oj/2005/l_177/l_17720050709fr00350041.pdf</a>

## CONGRES – SALONS – COLLOQUES

Classement par ordre alphabétique

### **PRODUITS LAITIERS**

8-12 octobre 2005  
Cologne, Allemagne

28<sup>ème</sup> salon Anuga 2005

<http://www.anuga.com>

18 octobre 2005  
Paris, France

Journée de l'IESIEL (Institut d'Etudes Supérieures  
d'Industrie et d'Economie Laitière)

e-mail : [secretariat@aae-iesiel.com](mailto:secretariat@aae-iesiel.com)

## VALIDATIONS AFNOR

Liste des méthodes alternatives d'analyses validées transmises par AFNOR Certification.

Intitulé	Date	N° d'attestation	Description
<b>RECONDUCTION DE VALIDATION</b>			
<b>TEST <math>\beta</math>-s.t.a.r.</b>	Date validation : 23.03.2001 Reconduction le 14.06.2005 <b>Fin de validité : 10.09.2009</b>	<b>CHR-02/3-03/01</b>	<b>Détection des <math>\beta</math>-lactamines</b> Lait cru, stérilisé et en poudre
<b>TEST 3M™ PETRIFILM™ ENTEROBACTE- RIACEAE</b>	Date validation : 10.09.1997 Reconduction les 13.12.2001 et 15.06.2005 <b>Fin de validité : 10.09.2009</b>	<b>3M-01/6-09/97</b>	<b>Dénombrement des enterobactéries</b> Tous produits d'alimentation humaine
<b>TEST 3M™ PETRIFILM™ FLORE TOTALE</b>	Date validation : 29.09.1989 Reconduction les 06.09.1993, 10.09.1997, 13.12.2001 et 15.06.2005 <b>Fin de validité : 10.09.2009</b>	<b>3M-01/1-09/89</b>	<b>Dénombrement de la flore totale</b> Tous produits d'alimentation humaine

Les textes des attestations de validation, ainsi que la liste récapitulative, sont disponibles auprès de :  
AFNOR Certification - 11 av. Francis de Pressensé - 93571 La Plaine St Denis cedex -  
Tél. : 01.41.62.80.91 ou 01.41.62.85.29 – Fax : 01.49.17.90.40 ou 01.49.17.90.19.  
Email : [claire.drean@afnor.fr](mailto:claire.drean@afnor.fr) ou [valentine.digonnet@afnor.fr](mailto:valentine.digonnet@afnor.fr)

La Lettre de CECALAIT est éditée par CECALAIT, B.P. 70129, 39802 POLIGNY CEDEX  
CECALAIT : association. Président : Marcel DENIEUL ; Vice-Président : Emmanuel MALLO;  
Trésorier : Jacques DELACROIX; Secrétaire : Pascaline GARNOT ; Directeur : Hugues DAMOUR  
Directeur de la publication : Marcel DENIEUL  
Créatrice : Annette BAPTISTE  
Maquette : A. BAPTISTE, I. BECAR  
Responsable de la rédaction : Carine TROUTET - E-mail : c.troutet@cecalait.fr  
Ont collaborés à ce numéro : P. ROLLIER, Ph. TROSSAT, X. QUERVEL  
Relecture : H. DAMOUR, X. QUERVEL, P. ROLLIER, Ph. TROSSAT - E-mail : ph.trossat@cecalait.fr  
Rédaction achevée le 20 septembre 2005  
Impression : CECALAIT, B.P. 70129, 39802 POLIGNY CEDEX - Tél. : 03.84.73.63.20 - Télécopie : 03.84.73.63.29  
3<sup>ème</sup> trimestre 2005  
Dépôt légal : à parution  
ISSN 1298-6976