

# L'ACTIVITE DE NORMALISATION INTERNATIONALE DE CECALAIT

**Début 2000 CECALAIT opère un redéploiement de ses experts dans des activités de normalisation pour aider la filière laitière à répondre à la profonde mutation engendrée par la mondialisation des échanges commerciaux. Les années 90 ont été témoin d'importants changements dans le domaine de l'analyse laitière et les objectifs actuels sont de produire des normes méthodes d'analyse munies de caractéristiques de fidélité établies dans des conditions normalisées pour répondre aux besoins de l'assurance qualité analytique et fournir les éléments normatifs nécessaires au Codex Alimentarius dans le cadre des échanges commerciaux internationaux.**

## INTRODUCTION

A sa création en 1990, parallèlement aux activités de services qu'il hérite de l'INRA et développe, CECALAIT reprend la mission de normalisation de méthodes d'analyse lait et produits laitiers menée par l'Institut de l'Élevage de pair avec les scientifiques de l'INRA-SRTAL à Poligny. A l'époque cette activité reste focalisée sur les méthodes classiques d'analyses physico-chimiques d'analyse du lait, les outils statistiques de calibrage et de contrôle et l'assurance qualité d'intérêt pour le paiement du lait et le contrôle laitier. La microbiologie n'est alors pas couverte si ce n'est au niveau des appareils automatiques de numération de germes.

### *EVOLUTION DES BESOINS DE NORMALISATION*

Avec l'internationalisation grandissante des échanges commerciaux, la confiance dans les caractéristiques annoncées des produits laitiers est amenée à être renforcée. Les années 90 sont caractérisées par la montée en puissance de l'assurance qualité et notamment dans le domaine de l'analyse, de la mise en place de systèmes et structures d'harmonisation des laboratoires par le biais d'essais d'aptitude et de matériaux de référence.

Une réflexion sur les conditions d'une reconnaissance mutuelle des systèmes nationaux et l'équivalence des essais d'aptitude entre pays commence à être menée avec l'initiative des premiers réseaux internationaux de laboratoires de référence dans le secteur laitier. Cette harmonisation reste toujours d'actualité.

Au niveau de la normalisation des méthodes d'analyse, les normes de méthodes vont devoir donner la possibilité aux laboratoires d'accompagner leurs résultats de valeurs d'incertitude, justifiant l'obligation de produire systématiquement des valeurs de fidélité (répétabilité et reproductibilité) dans les textes de normes. Celles-ci doivent être établies dans des conditions parfaitement maîtrisées selon des protocoles normalisés. Si les méthodes physico-chimiques quantitatives disposent de référentiels, les définitions de caractéristiques analytiques adaptées aux méthodes qualitatives ou

binaires et les méthodes microbiologiques quantitatives ainsi que des protocoles d'évaluation de la fidélité appropriés restent encore à établir et à normaliser. Un grand chantier est ouvert puisque l'ensemble des normes microbiologiques est à compléter de valeurs de fidélité et que, parallèlement, nombre de normes de méthodes physico-chimiques qui ne disposent pas encore de valeurs de fidélité (ou de valeurs établies dans des conditions validées) restent à pourvoir, ce qui va demander des mises à jour importantes lors des révisions.

Sur le plan analytique propre, des avancées méthodologiques importantes sont réalisées dans le domaine du calibrage et du contrôle des appareils automatiques d'analyse du lait. De même des méthodes nouvelles apparaissent - méthodes fluoro-opto-électroniques par cytométrie en flux, spectrométrie infra rouge à Transformée de Fourier, pH-métrie différentielle, etc - qui vont devoir être prises en compte par la normalisation.

Les méthodes de biologie moléculaire à l'exemple de la PCR se développent pour répondre à la problématique des risques alimentaires et de la sécurité des consommateurs et sont à l'origine du développement de nombreuses applications dans le domaine de la détection et la caractérisation des germes pathogènes.

Dans le domaine des antibiotiques, devant la diversité croissante des molécules utilisées, la réglementation santé du consommateur fixe des limites maximales en résidus (LMR) dans les produits laitiers ce qui donne lieu à une multiplication des méthodes rapides de détection et a justifié le développement d'un référentiel d'évaluation spécifique par la FIL. De même, face au développement croissant des méthodes alternatives rapides en microbiologie des germes pathogènes, l'ISO s'est vue dans l'obligation de développer une norme internationale pour leur validation. Parallèlement, le Codex promeut une « approche critère » pour pallier la carence en matière de méthodes de référence dans certains domaines. Celle-ci permet de s'affranchir d'une méthode normalisée ISO à travers la caractérisation de méthodes internes à partir de critères définis (linéarité, spécificité, fidélité, etc).

Aussi les années 90 constituent-elles une période de profond changement qui débouche sur une nouvelle organisation à l'aube de l'an 2000, avec l'ouverture de nombreux chantiers encore en cours en 2005.

## **REORGANISATION DE LA FIL & REDEPLOIEMENT DES EXPERTS DE CECALAIT**

Tandis que l'année 2000 voit la mise en place du Nouveau Plan Stratégique de la FIL avec une nouvelle organisation de son activité de normalisation des méthodes d'analyse, CECALAIT reçoit mandat de l'interprofession laitière (CNIEL) pour assurer une participation active aux travaux de normalisation de la FIL et de l'AFNOR, mission assurée sous couvert d'une convention entre les deux organismes. Désormais trois ingénieurs s'investissent pour une part de leur temps dans des activités de normalisation nationales et internationales.

### *LE PAYSAGE DE LA NORMALISATION INTERNATIONALE*

La **Fédération Internationale de Laiterie (FIL)** assure un travail de production de définitions, recommandations et méthodes diverses qui font office de normes particulières pour la filière laitière avec, notamment une production de méthodes d'analyse adaptées aux spécificités des produits laitiers. Les normes filières ainsi produites servent alors aux organismes laitiers adhérents des pays membres.

Parallèlement, la normalisation internationale, l'**Organisation Internationale de Normalisation (ISO)**, produit des normes de méthodes d'analyses avec une vocation beaucoup plus large puisqu'elle couvre la plupart des secteurs d'activité économique. L'ISO est constituée de l'association des organismes de normalisation nationaux et ses normes font généralement référence dans les pays membres auprès des organismes officiels. La normalisation ISO des méthodes d'analyse du lait et des produits laitiers est assurée par les comités techniques TC 34/SC 5 pour les méthodes physico-chimiques et TC 34/SC 9 pour les méthodes microbiologiques.

La généralisation des échanges internationaux intensifie les besoins en matière de définition de règles communes dans le cadre du commerce international. Le **Codex Alimentarius (Codex)** qui réunit les organismes gouvernementaux des pays de l'OMC assure ce rôle. Le Codex dispose d'un organe spécialement dédié aux méthodes d'analyse la **Commission Codex Méthodes d'Analyse et Echantillonnage (CCMAS)** avec pour le secteur laitier la sous-division **Commission Codex Lait et Produits Laitiers (CCMMP)**. Ces commissions sont

constituées d'experts représentant les différents pays membres. La FIL est représentée dans chacune d'elles. Le Codex n'a pas vocation à créer des normes et reprend les textes de normes élaborés par la FIL pour le secteur laitier et l'ISO.

De même, avec la concrétisation du libre échange européen, l'Union Européenne a dû définir un cadre normatif à appliquer dans le cadre communautaire et a créé pour cela le **Comité Européen de Normalisation CEN**. Pour le secteur laitier, ce comité reprend les normes issues de l'ISO et de la FIL qui correspondent à son besoin mais peut à défaut mener un travail de normalisation (comité technique CEN /TC 302).

Face à cette diversité de protagonistes, une politique d'harmonisation et de coopération étroite entre les organisations s'est imposée dans les années 90. Ainsi la Commission Européenne fait-elle appel aux experts de l'ISO qui coopère étroitement avec la FIL. Ces deux organisations, qui ont depuis longtemps collaboré, ont établi une convention de publication conjointe de normes en 1998. Dès lors, à partir de 2000, les groupes d'experts de l'ancienne commission E des méthodes d'analyse de la FIL vont devenir des groupes d'action mixtes où se retrouvent des spécialistes membres des deux organisations et les normes internationales vont être publiées sous une forme commune ISO/FIL, chaque norme étant alors revêtue du numéro d'identification propre à chacun des organismes.

### *NIVEAU NATIONAL FRANCE*

Suivant ce modèle, l'Association Laitière Française (ALF-FIL France) - membres français de la FIL - et l'AFNOR - membres français de l'ISO - travaillent en étroite concertation de manière à établir des positions communes concernant les projets de normes et des réponses cohérentes aux divers questionnaires émis conjointement par la FIL et l'ISO. Cela est facilité par le fait que plusieurs experts, dont ceux de CECALAIT, participent aux travaux des deux structures et des réunions mixtes ALF/AFNOR ont lieu pour préparer la semaine analytique de la FIL et en faire le bilan. Cette coopération s'opère dans le cadre des méthodes d'analyse physico-chimiques et microbiologiques.

Les problématiques du Codex se trouvent également discutées dans ce cadre où peuvent être invités les représentants français au Codex. Il en est de même des aspects concernant le CEN.

### *LA NORMALISATION DES METHODES D'ANALYSE A LA FIL*

Le travail est réalisé par des experts des pays membres désignés par leurs comités nationaux

respectifs en fonction des besoins. Les experts se réunissent au moins une fois par an à l'occasion de la Semaine Analytique FIL/ISO organisée chaque année dans un des pays membres.

Pour les méthodes d'analyse, la FIL a créé cinq **Comités Permanents (Standing Committees ou SC)** subdivisés en groupes de travail appelés **Groupes d'Action Mixtes (Joint Action Team ou JAT)** au sein desquels l'activité normative est réalisée :

- 1- Principaux Composés du Lait (SC MCM) : Regroupe les groupes Matière grasse, Composés azotés, Lactose & lactates et Eau.
- 2- Méthodes d'analyse des additifs et contaminants (SC AMAC) : Regroupe les groupes Contaminants organiques, Additifs & vitamines et Résidus vétérinaires.
- 3- Composés mineurs et caractérisation des propriétés physiques (SC MCCPP) : Regroupe les groupes Composés mineurs, Caractérisation des traitements thermiques, Propriétés physiques & rhéologiques, Enzymes en fabrication fromagère.
- 4- Méthodes d'analyse microbiologiques (SC MMA) : Regroupe les groupes Bactéries lactiques & ferments et Harmonisation microbiologique.
- 5- Assurance qualité, statistiques des données analytiques et échantillonnages (SC QASADS) : Regroupe les groupes Statistiques des données analytiques, Méthodes automatisées, Analyse de routine en microbiologie quantitative, et Echantillonnage. Les aspects assurance qualité sont traités par le comité permanent.

La conduite de la normalisation méthodes d'analyse est dirigée par le **Groupe de Pilotage des Méthodes d'Analyse (MSSG)** de la FIL constitué des présidents des Comités Permanents, du représentant de l'ISO pour l'analyse laitière et du membre du secrétariat de la FIL chargé de la liaison avec les experts et les comités nationaux.

#### **IMPLICATION DE CECALAIT DANS LA NORMALISATION DES METHODES D'ANALYSE FIL**

A l'heure actuelle, CECALAIT s'implique dans les activités de trois comités permanents de la FIL - le SC MCM, le SC MMA et le SC QASADS- Trois Ingénieurs de CECALAIT y participent : Patricia Rollier, Philippe Trossat et Olivier Leray.

Ces derniers y assurent autant des responsabilités d'experts (contribution, avis sur des projets de méthodes) que de responsables de projet (développement de normes). Ils peuvent également assurer des responsabilités de président et de président adjoint de groupes de travail :

#### **Comité permanent Principaux composés du Lait (SC MCM):**

##### **- Groupe Matière Grasse :**

Le groupe de travail est présidé par Fred Van Luin, également président du MSSG. Ph. Trossat en est membre. Parmi les différents sujets traités deux font l'objet d'une contribution particulière de CECALAIT:

##### a- Indice de lipolyse de la matière grasse du lait (BDI):

Dans les années 90, la réglementation française pour le paiement du lait a adopté comme méthode de référence pour la mesure de la lipolyse dans le lait de producteur, la méthode BDI selon la procédure décrite par André Van Reusel (CRA-Gembloux, Belgique) dans le Bulletin FIL 265 : 1991. Bien que publiée, la procédure n'avait pas caractère de norme, aussi le besoin d'un rattachement à un référentiel internationalement reconnu a-t-il justifié la demande d'une reprise du travail de normalisation de la méthode BDI. Le projet de normalisation, d'abord conduit par A. Van Reusel, a été transféré à CECALAIT à son départ à la retraite début 2004. Le travail est maintenant sous la responsabilité de Ph. Trossat, une publication de norme étant escomptée pour 2005-2006.

##### b- Méthodes de référence pour le dosage de la matière grasse des laits de brebis et de chèvre :

Dans un marché qui s'internationalise, la nécessité d'inscrire les productions de lait et produits laitiers caprins et ovins dans des systèmes qualité comparables à ce qui existe pour le lait de vache a justifié, en l'absence de méthode d'analyse spécifique pour les laits d'autres espèces que bovine, la mise en route en 2002 d'un projet d'adaptation des méthodes pour lait de vache aux spécificités des laits de chèvre d'une part, de brebis d'autre part. Les deux projets groupés - chèvre et brebis - sont menés conjointement par Chypre et l'Italie et sont suivis attentivement par CECALAIT. Le projet est dans la phase expérimentale qui doit préciser les ajustements méthodologiques nécessaires. Des essais complémentaires restent à réaliser avant d'arrêter les protocoles opératoires et d'entamer le processus de normalisation.

Les autres sujets traités en 2004 par le groupe de travail sont :

- c- Méthode de référence de dosage des stérols de la matière grasse laitière et produits à base de matière grasse laitière,
- d- Méthode de dosage des stérols de la matière grasse laitière par GLC,
- e- Mesure de l'indice de peroxyde (révision),
- f- Méthode de dosage de la matière grasse du fromage et fromage fondu (révision publiée en 2004),
- g- Méthode de référence pour la détection des matières grasses étrangères par analyse des triglycérides en chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Enfin la proposition de normalisation d'une méthode de dosage des acides gras poly-insaturés dans les produits laitiers ( $\omega$ -3 et  $\omega$ -6) est faite par l'Italie et acceptée comme sujet à l'étude.

#### **- Groupe Composés azotés :**

Le groupe de travail est suivi par Olivier Leray (Président) et Philippe Trossat. Deux sujets ont fait l'objet de l'implication de CECALAIT :

- a- Méthodes de référence pour le dosage de l'azote des laits de brebis et de chèvre :

De même que pour le dosage de la matière grasse, l'absence de méthode d'analyse spécifique pour les laits d'autres espèces que bovine, est à l'origine en 2002 de la mise en route d'un projet d'adaptation de la méthode Kjeldahl aux spécificités des laits de chèvre et de brebis. Le travail est mené conjointement par Chypre et l'Italie. O. Leray suit le projet qui arrive en fin de phase expérimentale.

- b- Méthodes de référence pour le dosage de l'urée dans le lait :

Le développement des méthodes rapides de l'urée dans le lait pour l'aide à la conduite des élevages a mis en évidence l'absence de méthode de référence pour l'urée. Les travaux préliminaires (bibliographie et expérimentations) menés par Dominique Lefier (INRA-URTAL, Poligny) en 1996 avec l'aide de CECALAIT ont permis à la FIL d'arbitrer en faveur d'une nouvelle méthode : la pH-métrie différentielle. Le projet démarré en 1996 arrivé au stade 3 de norme provisoire (DIS) en 2001 est transféré à CECALAIT où Ph. Trossat en a assuré la finalisation puis la mise à publication en 2004.

Les autres sujets traités en 2004 par le groupe de travail sont :

- c- Méthode de détection des protéines de pois et de soja dans la poudre de lait,
- d- Méthode de dosage de l'azote des caséines du lait, directe et indirecte (publiée en 2004),
- e- Dosage de l'azote du lait par la méthode semi-micro Kjeldahl à blocs de minéralisation (publié en 2004),

- f- Mesure du rapport protéines sériques sur caséines par spectroscopie UV,
- g- Dosage de l'azote du fromage par la méthode Kjeldahl (révision),
- h- Dosage de l'azote des caséines et caséinates par la méthode Kjeldahl (révision),

Par ailleurs, devant la multiplication des normes de dosage de l'azote par la méthode Kjeldahl pour répondre aux besoins de chaque produit laitier, une refonte de la norme Kjeldahl ISO 8968 / FIL 20 (Partie 1) ayant pour but d'élargir son champ d'application à d'autres produits laitiers est mise à l'étude. Elle pourrait réunir les normes azote déjà existantes (ex. les fromages, les caséines et caséinates, etc) et intégrer les nouveaux produits comme les laits de chèvre et brebis. Le travail préparatoire en est confié à J. Romero (USA) et Ph. Trossat chargés d'en définir le schéma général et de réaliser un questionnaire sur les produits laitiers à prendre en considération.

#### **- Groupe Lactose & lactate :**

Le groupe de travail présidé par Rachid Kouaouci (CAN) est suivi par Ph. Trossat avec notamment en charge le sujet suivant :

- a- Méthodes de dosage du lactose du lait par pH-métrie différentielle :

Le dosage du lactose dans le lait cru ne dispose pas de méthode de référence et la méthode HPLC pressentie comme telle reste encore aujourd'hui en cours de normalisation. Fort du succès de l'application de la pH-métrie différentielle au dosage de l'urée et devant les avantages qu'elle présente pour les laboratoires de routine (coût, simplicité et automatisation possible), l'idée d'une application au dosage du lactose est émise dès la semaine analytique de la FIL de Lisbonne en 1997. Le projet est proposé par André Van Reusel en 1998 à La Haye et validé à Ottawa en 1999. La mise au point est réalisée conjointement par le constructeur Eurochem (IT) et le CRA de Gembloux avec l'appui de CECALAIT qui fournit échantillons et essais interlaboratoires. Les résultats ont fait l'objet d'un poster au Sommet Laitier de la FIL à Paris. Achevée en 2002, la phase expérimentale a débouché sur la production d'un projet de norme qui entre dans le processus de normalisation. M. Van Reusel a transmis le dossier à CECALAIT pour le mener à bien avec Eurochem.

Les autres sujets traités en 2004 par le groupe de travail sont :

- b- Méthodes de référence pour le dosage du lactose du lait et produits laitiers par HPLC,
- c- Dosage de l'acide citrique dans le fromage et le fromage fondu par méthode enzymatique,

- d- Dosage de l'acide lactique et des lactates dans le lait sec par méthode enzymatique.

#### **- Groupe Eau :**

Le groupe de travail présidé par G.J. Beutick (NL) est suivi par Philippe Trossat à titre d'expert sans implication particulière de CECALAIT en 2004-2005. Les sujets traités sont :

- a- Dosage de l'eau dans la matière grasse du lait par la méthode Karl-Fischer sans chloroforme,
- b- Dosage de l'eau dans le lait sec par étuvage (publié en 2004),
- c- Méthode de référence pour le dosage de la matière sèche totale du fromage et fromage fondu,
- d- Méthode de référence pour le dosage de l'eau dans les caséines et caséinates,
- e- Dosage de la matière sèche totale dans les yaourts,
- f- Méthode de routine pour le dosage de l'eau, l'extrait sec non gras et la matière grasse du beurre (publiée en 2004),
- g- Détermination du point de congélation des laits de brebis et chèvre.

Deux autres sujets sont à l'étude :

- Détermination du contenu en eau des poudres laitières par la méthode Karl Fischer,
- Détermination de l'acidité titrable des yaourts par la méthode potentiométrique.

#### **Comité permanent Assurance Qualité, Statistiques des données analytiques et Echantillonnage (SC QASADS):**

Le **Groupe Assurance qualité** qui existait depuis 1992 a été dissous en 2003 et le comité permanent présidé par Juan Romero (USA) assure à sa place le suivi d'un projet relatif à la mise en place d'un réseau de laboratoires de référence destiné à servir les besoins analytiques des pays membres de la FIL. Ce projet qui remonte au début des années 90 n'a véritablement démarré qu'en 2002. Il est mené par O. Leray lequel contribue à animer le réseau par l'organisation d'essais interlaboratoires avec CECALAIT.

#### **- Groupe Statistiques des données analytiques :**

Le groupe de travail présidé par Hermann Glaeser (UE) est suivi par deux experts de CECALAIT, O. Leray et Ph. Trossat. Un des projets menés par le groupe est sous la responsabilité de CECALAIT :

- a- Révision de la norme FIL 135B : 1991 - Caractéristiques de fidélité des méthodes analytiques – Schéma de conduite d'une étude collaborative :

Ce document normatif a été produit dans les années 80 comme une transcription de la norme ISO 5725 en un protocole plus aisé à manier, adapté aux

particularités et besoins des méthodes d'analyses physico-chimiques quantitatives du lait et des produits laitiers.

Dans les années 90, la norme ISO 5725 a été considérablement remaniée avec l'inclusion de nouvelles parties de même que dans la norme FIL dans laquelle ont été introduites des variantes des tests de Grubbs pour l'élimination de résultats anormaux. Ainsi au fil des révisions, des différences significatives sont apparues entre le référentiel ISO et le protocole de la FIL, que les exigences d'une harmonisation des normes FIL et ISO imposent à présent de combler. Il est en effet devenu indispensable, en raison de publication de normes méthodes conjointes ISO/FIL, que l'utilisation de l'un ou l'autre référentiel (déclarés équivalents) permette l'obtention de résultats effectivement similaires pour une même méthode d'analyse et donne des résultats de calcul de fidélité identiques à partir des mêmes jeux de données analytiques. Le besoin du maintien de la norme FIL 135 comme guide pratique pour l'industrie laitière a été exprimé à nouveau. Après l'identification préalable des points de divergence, O. Leray a été chargé d'ajuster le texte du document FIL pour le rendre compatible avec la norme ISO 5725. Le travail est en cours actuellement.

Les autres sujets traités en 2004 par le groupe de travail sont :

- b- Contrôle qualité pour le comptage de colonies en laboratoire microbiologique (Parties 1 & 2),
- c- Protocole pour la définition de la fidélité des méthodes d'analyse microbiologiques,
- d- Caractérisation de la fidélité des déterminations utilisant les résultats de plusieurs méthodes,
- e- Conseil et appui aux autres groupes de travail pour les essais interlaboratoires,
- f- Les plans d'échantillonnage (CCMAS),
- g- Guide pour l'utilisation de matériaux de référence,
- h- Utilisation des méthodes de routine dans les contrôles officiels (publication dans le bulletin de la FIL en 2004).

#### **- Groupe Méthodes automatisées :**

Le groupe de travail présidé par Harry van den Bijgaart (NL) est suivi par deux experts de CECALAIT, O. Leray et Ph. Trossat. Deux des projets menés par le groupe sont suivis plus particulièrement par CECALAIT :

- a- Révision de la norme ISO 13366 / FIL 148 – Numération des cellules somatiques du lait :

Depuis sa dernière révision en 1995, la norme FIL 148 comprend trois parties traitant respectivement de la méthode de référence au microscope (référence), de la méthode de comptage de particules (type

Coulter Counter) et de la méthode fluoro-opto-électronique (type Fossomatic). Dans les années 90, alors que l'usage du Coulter Counter disparaissait, de nouvelles techniques étaient introduites par les constructeurs de matériels diversifiant les méthodes utilisées - cytométrie sur disque, cytométrie en flux, seuil de comptage automatique, seuil fixe – et entraînant le besoin d'une prise en compte plus détaillée des diverses méthodes de routine.

Par ailleurs, parallèlement, les méthodes de comptage de cellules somatiques d'abord utilisées pour l'analyse du lait de vache ont commencé à être appliquées aux laits de chèvre et de brebis avec une qualité de résultats souvent inégale. La mise à jour de la norme avec une extension du champ d'application aux laits des petits ruminants était donc devenue nécessaire.

Le projet d'une refonte générale de la norme FIL 148 a été proposée et adoptée en 2001. La partie 2 traitant du compteur de particules sera retirée ; la partie 1 méthode de référence sera développée de manière à offrir à l'utilisateur une procédure plus affinée et détaillée notamment en ce qui concerne la reconnaissance des cellules somatiques ; la partie 3 (devenant partie 2) ne sera plus limitée à un type de méthode opto-fluoro-électronique mais prendra en compte les différentes configurations de méthodes existantes. Un sous-groupe de travail spécifique de la FIL a été créé pour mener à bien ce travail, piloté par Silvia Orlandini (IT) pour la partie 1 et H. van den Bijgaart (NL) pour la partie 2. O. Leray et Ph. Trossat participent au travail du groupe en tant que membres. Les projets sont en début du processus de normalisation.

b- Révision de la norme ISO 8196 / FIL 128 – Définition et évaluation de la précision globale des méthodes indirectes d'analyse du lait – Application au calibrage et au contrôle qualité en laboratoire laitier :

Ce document normatif a été développé dans les années 80 pour accompagner les méthodes instrumentales d'analyse du lait qui ont vu le jour à partir des années 70 et ont été utilisées par les laboratoires de paiement du lait et de contrôle laitier. La volonté a été à l'époque de l'accompagner de normes plus spécifiques qui aborderaient les aspects particuliers des méthodes, comme par exemple la norme FIL 141 (ISO 9622) pour les analyses de composition par spectrométrie moyen infrarouge.

Depuis lors, les méthodes d'analyses indirectes ou instrumentales, automatisées ou non, se sont largement développées comme méthodes de routine et se sont adressées aux autres composants et caractéristiques du lait (urée, caséines, point de congélation, indice de lipolyse, pH, etc) ainsi qu'à d'autres produits laitiers (fromage, beurre, crème, poudre de lait, etc. De plus les méthodes rapides

tendent de plus en plus à être utilisées par les services officiels pour le contrôle de conformité des produits par rapport à des spécifications de composition. L'extension du champ d'application et l'ajustement du contenu à ces nouveaux critères et produits ont donc été jugés nécessaires. Une première étape consistera en une révision de la norme actuelle dédiée au lait avec une extension des aspects statistiques au contrôle de conformité.

Parallèlement, la mise en pratique de la partie 1 de la norme qui traite de l'évaluation des méthodes indirectes, du fait des essais interlaboratoires requis, est apparue difficile à appliquer dans le cas de nouveaux appareils coûteux arrivant sur le marché mais qui pourtant peuvent être proposés pour un usage officiel (ex. paiement du lait à la qualité). Aussi un second protocole d'évaluation a-t-il été proposé, avec comme objectif d'aboutir à une reconnaissance sur le plan international des nouvelles méthodes alternatives ainsi testées. Ce protocole reprend l'essentiel de la procédure d'évaluation des analyseurs de lait développé par l'International Committee of Animal Recording (ICAR). O. Leray a été chargé de la révision des parties 1 et 2 de la norme et de la rédaction d'une partie 3 traitant du protocole d'évaluation des méthodes alternatives du lait. Le processus de normalisation est en cours.

Les autres sujets traités en 2004 par le groupe de travail sont :

- c- Information générale sur les dosages par méthodes indirectes automatisées de l'urée, des caséines, point de congélation, etc,
- d- Application du proche infrarouge (PIR) à la détermination de la matière sèche et la matière grasse dans le fromage.

Par ailleurs, comme nouveau sujet, il est proposé, dans le cadre de la révision quinquennale de la norme ISO 9622 / FIL 141, d'étendre le champ d'application de la norme aux méthodes moyen infrarouge à Transformée de Fourier (FT-MIR), ainsi qu'à d'autres produits liquides (lactosérum, crème, lait thermisé) et d'autres composants du lait (urée, point de congélation, pH, etc.). Ce travail est pris en charge par H. Van den Bijgaart (NL) et Paul Sauvé (CAN) et fera l'objet de l'attention particulière des experts de CECALAIT.

#### **- Groupe Méthodes de routine en microbiologie quantitative :**

Le groupe de travail présidé par H. van den Bijgaart (NL) est suivi par trois experts de CECALAIT, O. Leray P. Rollier et Ph. Trossat. Deux des projets menés par le groupe sont suivis plus particulièrement par CECALAIT :

a- Détermination quantitative de la qualité bactériologique – Conversion :

Ce projet mené par H. Van den Bijgaart a été justifié par le besoin de raccordement des méthodes instrumentales de routine du paiement du lait à la méthode de référence FIL 100. L'utilisation de ces méthodes indirectes tend à être reconnue et acceptée dans les laboratoires officiels de l'Union Européenne. Le terme de méthode de conversion est employé pour exprimer la traduction des signaux instrumentaux (impulsions) en Unités Formant Colonies (UFC). Le document décrit le principe et la méthode qui est l'équivalent d'une méthode de calibrage pour les méthodes indirectes en physico-chimie. Le projet a été suivi par O. Leray et vient de s'achever par une publication en 2004.

b- Détermination quantitative de la qualité bactériologique – Guide sur l'évaluation des méthodes de routine:

La FIL a depuis les années 80 développé une norme spécifique pour l'évaluation des méthodes instrumentales de mesure de la qualité microbiologique du lait, la norme FIL 161, à l'image de la norme FIL 128 pour les méthodes indirectes en physico-chimie quantitative.

Parallèlement, l'ISO a élaboré dans les années 90 un protocole de validation des méthodes microbiologiques alternatives, la norme ISO 16140 publiée en 2002, pour répondre à la floraison des nouvelles méthodes microbiologiques rapides. Elle concerne l'ensemble des produits alimentaires.

Le champ d'application recouvrant celui de la norme FIL 161, il convient que l'usage de l'un ou l'autre protocole puisse conduire à des conclusions équivalentes pour les appareils automatiques validés. D'où le travail de rapprochement des deux normes mené par Gertraud Suhren (DE) et suivi par Ph. Trossat et P. Rollier.

CECALAIT ne participe pas aux travaux du dernier groupe du comité permanent SC QASADS, le JAT Echantillonnage.

### **Comité permanent Méthodes d'analyse microbiologiques (SC MMA):**

#### **- Groupe Harmonisation en microbiologie :**

Le groupe de travail produit et révisé des normes microbiologiques, introduisant les valeurs de fidélité manquantes et veillant à une harmonisation avec les normes horizontales ISO existantes. Quand celles-ci existent et qu'il y a compatibilité avec les normes FIL concernées, ces dernières sont supprimées. Patricia Rollier assure la participation de CECALAIT au travail du groupe présidé par H. Becker (DE) et est en particulier en charge de trois projets :

a- Méthode de numération des staphylocoques coagulase positive par comptage des colonies à 37°C pour le lait et les produits à base de lait :

Dans le cadre de l'harmonisation ISO/ FIL, la norme ISO 6888- 1 et 2 a été amendée pour prendre en compte les particularités de la norme FIL 145 / ISO 11867 dès lors cette dernière n'a plus lieu d'exister et va être supprimée. Le travail s'est achevé en 2004.

b- Analyse des performances des méthodes existantes de numération de *Pseudomonas spp.* pour l'éventuelle élaboration d'une nouvelle méthode adaptée aux produits laitiers :

Le projet, introduit par la France doit mener à la révision du projet de norme horizontale ISO 13720. Des travaux ont été menés par le groupe microbiologie des produits laitiers regroupant les experts de FIL-France ALF et de l'AFNOR (V08B), en collaboration avec l'équipe de Mme Leriche de l'ENITA de Clermont Ferrand. Le sujet a fait l'objet de deux articles de la Lettre de CECALAIT en 2004 (Lettres de CECALAIT n°48 et 51). Piloté par P. Rollier, le projet fait l'objet d'expérimentations complémentaires au niveau de la FIL et de l'ISO qui a mis en attente l'élaboration du projet de norme ISO 13720.

c- Guide général pour la préparation des échantillons, suspensions initiales et dilutions décimales pour l'analyse microbiologique, dans le lait et les produits laitiers :

La révision de la norme FIL 122 / ISO 8261 a eu lieu récemment. Toutefois, certaines méthodes décrites dans cette norme ne correspondant pas à la pratique des laboratoires, la mise en chantier d'une nouvelle révision a été demandée par la France. P. Rollier assure la responsabilité de ce nouveau projet qui débute en 2005.

Les autres sujets traités en 2004 par le groupe de travail sont :

d- Numération d'*Escherichia coli* présumé par technique NPP (partie 1), par technique NPP avec MUG (partie 2), par comptage de colonies sur membrane (partie 3), dans le lait et les produits laitiers,

e- Numération des coliformes par comptage des colonies à 30°C (partie 1), par la technique NPP (partie 2),

f- Numération de *Bacillus cereus* par la technique NPP dans les produits laitiers secs,

g- Détection de *Listeria monocytogenes* dans le lait et les produits laitiers,

h- Règles générales pour l'examen microbiologique des aliments et aliments pour animaux,

i- Numération des microorganismes par technique de l'anse calibrée à 30°C,

- j- Numération des microorganismes psychrotrophes par technique rapide de comptage de colonies 25 h à 21°C, dans le lait,
- k- Détection de la thermonucléase produite par les staphylocoques coagulase positive dans le lait et les produits laitiers,

D'autres sujets sont à l'étude au sein du groupe de travail :

- Numération de *Listeria monocytogenes* par comptage des colonies, dans le lait et les produits laitiers,
- Détection des staphylocoques coagulase positive par technique NPP, dans le lait et les produits à base de lait,
- Méthode horizontale pour la détection et la numération de *Campylobacter* poussant à 41,5°C – Partie 1 Méthode de détection.

Proposition de nouveaux sujets :

- Détection d'*Enterobacter sakazakii* dans les produits secs destinés aux enfants

CECALAIT ne participe pas aux travaux du second groupe de travail du comité permanent SC MMA, le JAT Bactéries lactiques et ferments.

#### **Les autres comités permanents :**

Pour représenter la France dans les comités permanents Méthodes d'analyse des additifs et

contaminants (SC AMAC) et Composés mineurs et caractérisation des propriétés physiques (SC MCCPP), l'ALF-FIL France fait appel aux experts d'autres organismes dont les domaines d'expertise recouvrent les champs respectifs des comités permanents. Il s'agit d'experts de l'AFSSA, organisme officiel par ailleurs déjà présent à l'ISO, à l'Union Européenne notamment comme Laboratoire Communautaire de Référence, au CEN et au Codex, de l'INRA et de divers organismes privés de la transformation.

Plusieurs de ces experts sont également impliqués dans les mêmes comités permanents que CECALAIT avec lesquels des liens sont noués et des travaux menés au niveau national au fil des besoins.

#### **CONCLUSION**

Dès 2000, l'ALF-FIL France a su réorganiser son équipe d'experts analytiques pour faire face à la nouvelle donne imposée par la mutation de l'industrie laitière dans une économie de plus en plus tributaire des échanges internationaux et CECALAIT y apporte une participation et un soutien technique et scientifique soutenu. Les ingénieurs de CECALAIT travaillent en concertation et en collaboration avec les instances de normalisation nationales et les services officiels pour faire valoir les positions de l'industrie laitière française.

O. LERAY, mars 2005