

2001

1^{er} trimestre

N°36

LA LETTRE DE CECALAIT

CECALAIT INRA SRTAL BP 89 39801 Poligny TEL : 03.84.73.63.20 TELECOPIE : 03.84.73.63.29
E-mail : bapt@poligny.inra.fr ou trossat@poligny.inra.fr

Rédaction achevée le 23 mars 2001

rédaction : A. BAPTISTE

Relecture par : B. LOMBARD, P. ROLLIER, Ph. TROSSAT

SOMMAIRE

Résultats du programme européen sur *Clostridium perfringens*

Normes et projets de normes parus récemment

Validations AFNOR

Nouveautés dans la réglementation

Brèves...

Rendez-vous

Du côté de la biblio...

Tableaux des avis parus aux JO France des 6 et 8/12/2000

Résultats du programme européen sur *Clostridium perfringens*

La méthode ISO 7937 (1997) de dénombrement de *Clostridium perfringens* dans les aliments a été évaluée, dans le cadre d'un programme européen destiné à établir, au moyen d'études collaboratives, les performances de fidélité des méthodes ISO de détection et/ou dénombrement de microorganismes pathogènes dans les aliments. Dans le but d'arriver, en outre, à une harmonisation entre cette méthode ISO et une méthode normalisée de référence au niveau européen, la norme EN 13401 (1999), l'étude a inclus la comparaison de deux techniques de confirmation des colonies présumées *C. perfringens*. L'une, décrite dans les deux textes, utilise le milieu lactose-sulfite ; l'autre, proposée en technique alternative dans la norme européenne, utilise à la fois le milieu « nitrate-mobilité » et le milieu lactosé à la gélatine.

Les méthodes ISO 7937 et EN 13401 ont été trouvées globalement satisfaisantes, avec des performances équivalentes quelle que soit la technique de confirmation employée. Les valeurs moyennes de fidélité obtenues pour le fromage sont :

- $r(\log) = 0,24$ et $R(\log) = 0,26$ après confirmation en milieu lactose-sulfite
- $r(\log) = 0,25$ et $R(\log) = 0,31$ après confirmation en milieu « nitrate-mobilité », combiné au milieu lactosé à la gélatine

Il a été recommandé d'inclure l'ensemble des valeurs de fidélité obtenues, pour les différentes matrices étudiées dans la norme ISO 7937 et d'autoriser dans ce texte aussi, la technique alternative de confirmation, déjà prévue dans la norme EN 13401.

Pour adopter une méthode normalisée en tant que norme Européenne, le CEN (Comité Européen de Normalisation) exige des données sur sa fidélité (répétabilité et reproductibilité) qui doivent avoir été établies par une étude collaborative, conformément à la norme ISO 5725. Fin 1996, la Commission Européenne a lancé un projet sur quatre ans, destiné à évaluer six méthodes microbiologiques horizontales ISO, portant sur la détection et / ou le dénombrement dans les aliments des microorganismes pathogènes suivants : *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus* à coagulase positive, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*.

Par le passé, nous avons rendu compte des résultats obtenus à l'issue des études sur :

- le dénombrement de *Bacillus cereus* dans les aliments par la norme ISO 7932, 1993 (cf Lettre de CECALAIT n° 26).
- la détection et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* par les méthodes ISO 11290-1 & -2 (cf Lettre de CECALAIT n° 30).
- le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par les méthodes ISO 6888-1 & -2 (cf Lettre de CECALAIT n° 35).

Depuis, l'étude concernant *Clostridium perfringens* est, elle aussi, arrivée à son terme. Ses résultats et conclusions ont été présentées lors d'une réunion entre les différents partenaires du projet, début décembre 2000 et son rapport final est en passe d'être diffusé.

Dans ce projet de grande ampleur, impliquant une vingtaine de laboratoires internationaux, les coordinateur et partenaires du programme restent :

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

A tour de rôle, chacun de ces trois laboratoires a été responsable d'un volet du projet. L'étude sur *Clostridium perfringens* a ainsi été conduite par le RIVM.

Parmi les sous-contractants de ce programme, CECALAIT a assuré la préparation, la mise au point, la définition des

paramètres de conservation et l'expédition des échantillons de fromage.

1) CLOSTRIDIUM PERFRINGENS : GENERALITES ET METHODES DE DENOMBREMENT

Il s'agit de bâtonnets Gram positif, anaérobies stricts et sporulés, susceptibles de produire plusieurs toxines provoquant des affections digestives, lors de leur processus de sporulation. Ils sont considérés comme la 3^e cause mondiale des toxi-infections alimentaires (TIA), bien que ne représentant que 5% des TIA en France – mais 15% des hospitalisations consécutives (cf THOLOZAN et al.).

Ils sont largement présents dans l'environnement ainsi que dans la flore intestinale des animaux sains et de l'homme. Ils constituent, soit directement, soit par le biais de l'environnement, des contaminants fréquents des aliments à base de viande. Leurs spores sont persistantes dans le sol, les sédiments et les zones sujettes à des pollutions fécales. En conditions favorables : température entre 15°C et 50°C, pH voisin de 7, aw entre 0,93 et 0,945, leur temps de doublement est très court. Au froid, le développement de quelques souches reste possible, mais leur croissance s'arrête rapidement : le nombre de formes végétatives diminue mais les spores survivent. A l'inverse, la plupart des spores sont détruites lors des traitements thermiques de cuisson, mais celles de certaines souches y résistent, permettant la multiplication ultérieure des germes dans les préparations alimentaires, surtout lorsque celles-ci sont refroidies trop lentement.

Au-delà d'un certain niveau microbien (de 10⁵ à 10⁸/g d'aliment selon différentes sources bibliographiques !) le déclenchement d'une TIA devient possible : les germes ingérés en même temps que l'aliment se multiplient dans l'intestin et sporulent, ce qui libère les toxines. Les symptômes : diarrhées et douleurs abdominales intenses se manifestent 6 à 48h après l'ingestion des aliments contaminés et régressent généralement au bout de 24h. La plupart des TIA dues à *C. perfringens* ont été associées à la viande, aux préparations à base de viande et aux sauces.

REGLEMENTATION

Dans la réglementation française, le critère *C. perfringens* n'apparaît en tant que tel que pour quelques produits : foie gras, végétaux.... Dans la plupart des aliments (viandes, semi-conserve,

pâtisseries), il est plutôt fait référence à des critères voisins, plus larges, mais bien moins définis, comme les *Clostridium* sulfito-réducteurs, voire les anaérobies sulfito-réducteurs. Pour les produits laitiers, seuls sont concernés certains aliments lactés destinés à une alimentation particulière, c'est à dire « aux enfants en bas âge, aux femmes enceintes ou allaitantes, aux convalescents, aux personnes âgées, à toute personne ayant des besoins particuliers en certains éléments »... Dans ce cadre, les aliments lactés « n'ayant pas subi de traitement thermique dans le récipient les contenant et nécessitant éventuellement une adjonction de liquide avant consommation » doivent répondre aux critères suivants :

Dans 1g de produit déshydraté ou 10g sous forme liquide :

- *C. perfringens* : absence,
- *Clostridium* sulfito-réducteurs à 46°C : < 10.

(cf AM du 30/3/1978, in note de service DGAI n° 2000-8155)

↳ METHODES

➔ ISO 7937 de 1997 et EN 13401 de 1999

La méthode horizontale de référence pour dénombrer *Clostridium perfringens* est décrite dans la norme ISO 7937 de 1997. La norme européenne EN 13401 de 1999 y est quasiment identique sauf sur un point, la confirmation des colonies suspectes. Elle propose, en effet, le choix entre deux techniques : l'une reprend le milieu décrit par la norme 7937 de 1997, l'autre se base sur deux tests décrits dans la première édition de la norme 7937, en 1985.

Ces deux techniques ont donc été insérées dans le protocole expérimental de cette étude du programme européen, afin d'en comparer les performances et de permettre une harmonisation ultérieure entre les deux normes.

Le principe des normes ISO 7932 et EN 13401 se décomposent en plusieurs phases successives à partir de la préparation de la suspension mère.

- inoculer deux séries de boîtes de Petri stériles, vides, à partir de la suspension mère ou de ses dilutions décimales,
- sur l'inoculum, couler le milieu gélosé tryptose-sulfite-cyclosérine, exempt de jaune d'oeuf (SC), maintenu à 47°C et bien les mélanger,
- après solidification, ajouter une surcouche du même milieu gélosé SC,
- incuber en anaérobiose à 37°C pendant 20h,
- compter les colonies noires, présumées *C. perfringens*,
- faire un test de confirmation sur un certain nombre de colonies caractéristiques, retenues pour le dénombrement.

➤ Dans les normes ISO 7937 et EN 13401, ce test se base sur une abondante production de gaz et l'apparition d'un précipité noir, en milieu lactose-sulfite après incubation en anaérobiose à 46°C.

➤ La norme EN 13401 laisse cependant la possibilité d'utiliser une méthode alternative, faisant appel à la combinaison de deux autres tests qui doivent être

pratiqués à partir d'une même colonie caractéristique, bien isolée :

- ♦ l'un a lieu en milieu « nitrate-mobilité » après incubation en anaérobiose à 37°C : les *C. perfringens* y sont non mobiles et réduisent le nitrate en nitrite, d'où l'apparition d'une intense couleur rouge, après adjonction d'un réactif approprié,
- ♦ l'autre se base sur une abondante production de gaz et l'apparition d'une couleur jaune, en milieu lactosé à la gélatine, puis sur la liquéfaction de la gélatine.

➔ Rappel des méthodes françaises

La méthode de référence AFNOR actuelle, V 08-019 de décembre 1985 est équivalente à la méthode ISO 7937, dans sa version de 1985, c'est à dire qu'elle fait appel aux tests de confirmation « mobilité-nitrate » et milieu lactosé à la gélatine. Il existe cependant une méthode de routine, V 08-056 d'avril 1994, basée sur les mêmes principes que la norme ISO 7937 de 1997, utilisant donc un test de confirmation en milieu lactose-sulfite.

Quant au dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs, un critère mentionné, on l'a vu, dans de nombreux textes réglementaires, il est également basé sur l'utilisation du milieu SC, mais ne prévoit pas de tests de confirmation.

Pour en revenir au programme européen, l'objectif de l'étude était donc de valider la méthode décrite dans ISO 7937, -et éventuellement la variante décrite dans EN 13401- et de déterminer leurs valeurs de fidélité en termes de répétabilité, r, et de reproductibilité, R, au moyen d'une étude collaborative.

2) ETUDE COLLABORATIVE

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

- matériaux de référence, à savoir des capsules de gélatine, préparées par le RIVM, contenant de la poudre de lait, contaminée par des spores de *Clostridium perfringens*.
- trois types d'aliments, représentatifs de la diversité du domaine d'application de la méthode, à savoir :
 - ♦ un produit laitier : fromage, préparé par CECALAIT,
 - ♦ un produit carné : viande de bœuf hachée lyophilisée, préparée par le MAFF-CSL,
 - ♦ un produit sec : aliment pour animaux, préparé par le RIVM. Celui-ci a dû, cependant, ajouter du lait en poudre contaminé à ce type d'aliment, trop gluant pour pouvoir être contaminé artificiellement.

Ils ont tous été contaminés artificiellement, à plusieurs niveaux d'inoculum, à la fois par une souche appropriée de *Clostridium perfringens** sous forme sporulée, ainsi que par une flore autochtone simulée pour le fromage et la viande. Pour les aliments pour animaux, c'est la flore autochtone naturelle qui a été conservée. (cf tableau 1).

* d'origine alimentaire ou d'origine clinique.

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

Les niveaux de contamination s'établissent finalement selon le tableau 1.

tableau 1 : niveaux de contamination des échantillons d'aliments
table 1 : contamination levels of the samples

niveau level	<i>C. perfringens</i>	flore autochtone autochthonous flora
témoin (negative)	0	5. 10 ³ pfc/g pour le fromage 5. 10 ³ cfp/g for cheese autres matrices, cf ci-dessous other matrixes, see below
bas low	10 ² - 10 ³ pfc/g cfp/g	même niveau que <i>C. perfringens</i> pour le fromage
moyen medium	≈ 10 ⁴ pfc/g cfp/g	10 ⁵ pfc/g pour la viande 1. 10 ³ pfc/g, aliment animaux same level as <i>C. perfringens</i> for cheese
haut high	≈ 10 ⁵ pfc/g cfp/g	1. 10 ⁵ cfp/g for meat 1. 10 ³ cfp/g for feed
référence (reference)	≈ 5000 pfc /capsule cfp	

Après un pré-essai entre les trois laboratoires partenaires pour bien cerner les difficultés de la méthode et fixer le mode opératoire, l'étude collaborative a eu lieu en janvier et février 2000 et a finalement rassemblé 17 laboratoires de 13 pays européens.

Les analyses ont été effectuées en double aveugle et la plupart des laboratoires ont testé tous les échantillons, en utilisant les deux techniques de confirmation.

3) RESULTATS

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

Puis, le dépouillement des rapports d'essais a permis de constater que leur transport et leur réception avaient été globalement satisfaisants.

Pour ce qui est du protocole expérimental, le seul point délicat relevé par les laboratoires concerne les conditions d'incubation lors du test de confirmation en milieu lactose-sulfite. Les indications de la norme ISO 7937 semblent manquer de clarté sur ce point, d'où une incubation en anaérobiose pour certains laboratoires, en aérobiose, pour d'autres, ce qui a pu provoquer quelques difficultés d'interprétation des résultats du test, dans ce dernier cas. Cette péripétie a toutefois été sans conséquence sur les résultats finals et aucune élimination de résultat de laboratoire n'en a résulté.

En ce qui concerne les comptages, les résultats ont ensuite été transformés en log. Puis les valeurs aberrantes ont été éliminées à l'aide du test de Duncan, avant le calcul des valeurs de répétabilité et de reproductibilité.

Ces calculs ont été effectués selon les indications de la norme ISO 5725, comme à l'accoutumée, mais aussi selon le projet de norme EN ISO 16140 qui, s'appuyant sur la détermination de la médiane, semblerait plus adapté aux méthodes microbiologiques.

Les tableaux 2 et 3 présentent les valeurs obtenues, en appliquant ce dernier mode de calcul. Mais, en fait, l'une ou l'autre façon de calculer aboutissent quasiment aux mêmes résultats.

Tableau 2 : répétabilité et reproductibilité des méthodes ISO 7937 et EN 13401 en utilisant le test de confirmation en milieu lactose-sulfite

Table 2 : repeatability and reproducibility of ISO 7937 and EN 13401, using lactose-sulfite medium confirmed counts

Echantillons samples	Nombre labos number labs	médiane (log) median	r (log)	R (log)
Fromage cheese	13	2.52	0.28	0.34
		3.53	0.19	0.21
		4.54	0.25	0.22
Viande meat	13	2.72	0.23	0.34
		3.61	0.21	0.60
		4.54	0.35	0.70
Aliment animaux dried feed	13	2.61	0.28	0.75
		3.82	0.11	0.69
		4.79	0.17	0.52
Référence	13	3.72	0.19	0.27

avec / with

médiane : paramètre de position tel que la moitié des observations lui sont inférieures ou égales et la moitié supérieures ou égales. (In DAGNELIE)

NB : quand la population est répartie selon une loi normale, la médiane est égale à la moyenne

median : value such as half of the observed values are lower or equal and half of the observed values are higher or equal (In DAGNELIE)

NB : when the population is normally distributed, the median is equal to the mean

r : répétabilité. En échelle log signifie que la différence logarithmique obtenue entre deux répétitions dans le même laboratoire a une probabilité de 95% d'être inférieure à r.

r : repeatability. In a log scale, it means that the log difference between two replicates performed in the same laboratory has a 95% probability of being lower than r

R : reproductibilité. En échelle log signifie que la différence logarithmique obtenue entre deux analyses dans des laboratoires différents a une probabilité de 95% d'être inférieure à R.

R : reproducibility. In a log scale, it means that the log difference between the same analyses performed in different laboratories has a 95% probability of being lower than R

Tableau 3 : répétabilité et reproductibilité des méthodes ISO 7937 et EN 13401 en utilisant les tests de confirmation « nitrate-mobilité » et milieu lactosé à la gélatine

Table 3 : repeatability and reproducibility of ISO 7937 and EN 13401, using motility-nitrate and lactose-gelatine medium confirmed counts

Echantillons samples	Nombre labos number labs	moyenne (log) mean	r (log)	R (log)
Fromage <i>cheese</i>	13	2.49	0.30	0.35
		3.55	0.20	0.27
		4.49	0.24	0.32
Viande <i>meat</i>	13	2.71	0.33	0.47
		3.61	0.26	0.61
		4.62	0.27	0.47
aliment animaux <i>dried feed</i>	13	2.61	0.15	0.85
		3.87	0.13	0.74
		4.83	0.14	0.58
Référence	13	3.71	0.12	0.29

Les tableaux 2 et 3 montrent que les valeurs de répétabilité et de reproductibilité varient quelque peu en fonction du type d'aliment et du niveau de contamination ; les valeurs les plus faibles étant obtenues logiquement avec le matériau de référence et les plus élevées avec l'aliment pour animaux au niveau de contamination faible. Ces variations peuvent, à vrai dire, s'expliquer aussi bien par des différences de matrice que par les différences de mode de contamination des aliments. Le plus souvent, les valeurs de fidélité les plus élevées sont observées pour le niveau de contamination le plus faible. C'est le cas ici, pour le fromage et l'aliment pour animaux, mais c'est moins net avec la viande.

Le calcul de valeurs moyennes de fidélité reste cependant tout à fait envisageable et le tableau 4 résume les valeurs ainsi obtenues selon chacune des deux techniques de confirmation.

avec / with

LS : milieu lactose-sulfite

lactose-sulfite medium

NM & LG : milieu « nitrate-mobilité » & milieu lactosé à la gélatine
motility nitrate medium & lactose-gelatine medium

tableau 4 : valeurs moyennes de fidélité des méthodes ISO 7937 et EN 13401

table 4 : mean precision of ISO 7937 and EN 13401 methods

aliments food	confirmation LS		confirmation MN & LG	
	r (log)	R (log)	r (log)	R (log)
fromage cheese	0.24	0.26	0.25	0.31
viande meat	0.26	0.55	0.29	0.52
aliment animaux dried feed	0.19	0.65	0.14	0.72
Référence	0.19	0.27	0.12	0.29

De même que les tableaux 2 et 3, le tableau 4 illustre, en outre, la similitude des données de précision obtenues avec les deux techniques de confirmation. Puisqu'elles aboutissent à des performances équivalentes, il n'y a donc pas lieu de privilégier l'une par rapport à l'autre et il semble souhaitable de laisser le choix à l'utilisateur en fonction de ses habitudes.

4) CONCLUSION

A l'issue de cette étude, les méthodes de référence de dénombrement de *Clostridium perfringens*, ISO 7937 et EN 13401 ont été trouvées globalement satisfaisantes à l'issue de cette étude collaborative de grande ampleur. Des recommandations pour l'évolution des normes en ont néanmoins été tirées et seront transmises au CEN et à l'ISO lors des prochaines réunions de ce programme, prévues en juin 2001, à Berne. Il s'agit :

- ♦ d'inclure dans les deux normes les données de fidélité déterminées dans cette étude selon le projet EN ISO 16140.
- ♦ d'accorder dans la norme ISO 7937 le choix entre deux techniques de confirmation des colonies de *C. perfringens* : l'une utilisant le milieu lactose-sulfite, l'autre la combinaison du milieu « nitrate-mobilité » et du milieu lactosé à la gélatine. Cela aboutira, de fait, à l'harmonisation des méthodes ISO 7937 et EN 13401.
- ♦ d'améliorer, dans les deux textes, la description des conditions d'incubation pour le test de confirmation en milieu lactose-sulfite. Il faudra préciser ainsi si les conditions anaérobies sont nécessaires ou facultatives.

Abréviations

AM : arrêté ministériel

CEN : Comité Européen de Normalisation

cfp : colonie formant particule = pfc : **particle forming colony**

DGAI : Direction Générale de l'Alimentation

ISO : International Standardization Organization

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

RIVM : Rijks Instituut voor Volksgezondheid en Milieu

Bibliographie

- ♦ DAGNELIE P. Théorie et méthodes statistiques. Tome 1. Les Presses Agronomiques de Gembloux, 1973, 378 p.
- ♦ DGAI/SDHA Critères microbiologiques applicables aux aliments. Note de service n°2000-8155 du 12/12/2000, 17 pages.
- ♦ SCHULTEN S.M., BENSCHOP E., NAGELKERKE N.J.D.; MOOIJMAN K.A.. Validation of microbiological methods. Enumeration of

Clostridium perfringens according to ISO 7937 (second edition, 1997). RIVM report 286555 002, november 2000 [draft], 83 p.

- ♦ THOLOZAN J.L.; CARLIN F.; FACH P.; POUMEYROL M. Bactéries anaérobies strictes et hygiène des aliments. Bull. Soc. Fr. Microbiol. 1997, V. 12, N. 1, p. 48-56.
- ♦ US Food & Drug Administration / Center for Food Safety & Applied Nutrition. *Clostridium perfringens*. In Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook (Bad Bug Book). <http://vm.cfsan.fda.gov/mow/chap11.ht>

Normes et projets de normes parus récemment (reçus entre Janvier et Mars 2001)

NORMES FRANCAISES

NF B 35-356, mars 2001. (ICS : 67.260 : Installation et matériel pour l'industrie alimentaire; 71.040.20 : Verrerie de laboratoire et appareils connexes) VERRERIE DE LABORATOIRE. Butyromètres à lait sec et produits laitiers secs.

Ce texte remplace le projet de même intitulé, paru en juillet dernier. Il spécifie les caractéristiques de butyromètres (et de leurs bouchons), destinés à la détermination de la matière grasse par une méthode acido-butyrométrique donnant des résultats, lus par un opérateur ou de façon automatisée, en g pour 100g. Ils peuvent être utilisés pour du lait, lactosérum, babeurre, caséine, caséinate...secs, à l'exclusion des fromages en poudre. Ce matériel n'avait encore jamais été normalisé.

NF V 04-600, janvier 2001 (ICS : 67.100.10 : Lait et produits laitiers transformés). PRODUITS LAITIERS FRAIS. Spécifications des laits fermentés et des yaourts/yoghourts.

Ce texte remplace le projet de même intitulé, paru en septembre dernier. Il s'applique aux laits fermentés, additionnés ou non d'ingrédients, à l'exclusion de tous les produits chauffés après la fermentation. Il en donne les caractéristiques essentielles de composition en microorganismes vivants, en ingrédients laitiers ou autres, en additifs..., précise les points essentiels de leur fabrication, leur étiquetage, leur classification ainsi que leurs méthodes d'analyse.

NF V 08-100, janvier 2001 (ICS : 07.100.30 : Microbiologie alimentaire). MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS. Ensemencement et dénombrement des microorganismes à l'aide de la méthode Spirale.

Ce texte remplace le projet de même intitulé, paru en février 1999 et annule la norme précédente d'octobre 1987. Le texte a été actualisé pour prendre en compte l'ensemble des appareils actuellement présents sur le marché. Ainsi les annexes consacrées aux méthodes d'étalonnage et de vérification des volumes ont été supprimées et remplacées, dans le corps du texte, par une partie portant sur les différentes méthodes de vérification des volumes distribués. Les explications des exemples de mode de calcul ont été étoffées et une partie consacrée aux limites de confiance a été ajoutée, de même qu'une annexe donnant le facteur de correction, qui tient compte des variations de la densité de l'eau en fonction de la température et de la tension de vapeur dans l'air au moment du test.

NF X 50-143, décembre 2000. (ICS : 03.120.10 Management et assurance de la qualité; 17.020 Métrologie et mesure en général) ESSAIS. Conception et réalisation des essais. Pertinence et représentativité des essais.

Ce texte remplace le projet de même intitulé, paru en mai dernier et remplace la norme X 07-143 de décembre 1993. Par rapport à la version précédente, les modifications sont principalement d'ordre rédactionnel, avec notamment des mises à jour de définitions, provenant de normes elles-mêmes mises à jour. Le changement de numérotation correspond à un souci de cohérence dans l'ensemble des normes consacrées à ces questions.

PROJETS DE NORMES AFNOR, SOUMIS A ENQUETE

Projet NF EN 14056 (B 35-056) MOBILIER DE LABORATOIRE. Recommandations de conception et d'installation.

Projet NF B 35-357 VERRERIE DE LABORATOIRE. Butyromètre à lait de brebis.

Projet NF B 35-522 VERRERIE DE LABORATOIRE. Aréomètre à masse volumique pour le lait et les produits laitiers liquides.

Projet NF EN 14082 (V 03-083) – PRODUITS ALIMENTAIRES. - Dosage des éléments trace. Détermination du plomb, cadmium, zinc, cuivre, fer et chrome par spectrométrie d'absorption atomique (AAS) après incinération à sec.

Projet NF EN 14083 (V 03-084) PRODUITS ALIMENTAIRES. - Dosage des éléments trace. Détermination du plomb, cadmium, chrome et molybdène par spectrométrie d'absorption atomique à four graphite après digestion sous forme pression

Projet NF EN 14084 (V 03-085) PRODUITS ALIMENTAIRES. - Dosage des éléments trace. Détermination du plomb, cadmium, zinc, cuivre et fer par spectrométrie d'absorption atomique (AAS) après digestion par micro-ondes.

NB: dans le domaine du lait et des produits laitiers, il existe d'autres méthodes de dosage, photométriques notamment, de certains de ces éléments trace. La seule méthode par absorption atomique concerne le dosage du zinc (FIL 156A :2000, NF ISO 11813, septembre 1999)

Projet NF EN 1211 (V 04-214) LAIT. Détermination de la teneur en matière grasse. Méthode gravimétrique.

Projet NF V 04-287 FROMAGES. Détermination de la teneur en matière grasse. Méthode acido-butyrométrique.

Projet NF X 07-010 METROLOGIE. La fonction métrologie dans l'entreprise

➤ à signaler également la parution

↪ de la norme **NF EN 12014-1/A1 (AFNOR V 03-010-1/A1) février 2001.** PRODUITS ALIMENTAIRES. Détermination de la teneur en nitrates et/ou en nitrites. Partie 1 : considérations générales.

↪ en janvier 2001, d'un ensemble de normes en vue du dosage par chromatographie liquide à haute performance de vitamines dans les produits alimentaires. Il s'agit de

- NF EN 12821, pour la vitamine D, dosée sous la forme de cholécalciférol (D3) et d'ergocalciférol (D2)

▪ NF EN 12822, pour la vitamine E, dosée sous forme d' α , β , γ , et δ -tocophérols.

▪ NF EN 12823-1 & -2, pour la vitamine A. La partie 1 étant consacrée au dosage du tout-trans et du 13-cis-rétinol ; la partie 2, au dosage du β -carotène.

NB : pour l'heure, dans les produits laitiers, les seules normes de dosage des vitamines concernent respectivement la vitamine A et la vitamine D, dans le lait écrémé en poudre, par HPLC (FIL 142 :1990 et 177 :1996, respectivement).

↪ de la collection des trois normes **NF EN ISO 9000, décembre 2000**, à savoir ISO 9000, 9001 & 9004, consacrée aux systèmes de management de la qualité.

↪ du recueil en deux tomes, **La Chimie analytique**, qui présente à la fois les normes fondamentales de l'analyse chimique et les normes relatives à l'échantillonnage, aux méthodes générales d'analyse utilisées dans les laboratoires et aux réactifs. (Ref AFNOR 3172911).

Validations AFNOR

Le département Certifications de l'AFNOR nous a fourni sa dernière liste de méthodes alternatives d'analyses validées, en date du 30/11/2000.

↪ Une nouvelle méthode y a ainsi été validée : **LUMIPROBE 24h Salmonella Sp.**, de la société Europrobe, distribué par Euralam, validé le 29/11/2000 (*n° d'attestation : EUR 15/2 -11/00*), un test de détection de *Salmonella* dans les ovoproduits.

↪ La validation de trois méthodes a, en outre, été prolongée jusqu'en avril 2001 (dossiers en cours) :

- **Dynabeads** anti *E. coli* O157 et anti *Salmonella* (*n°s* d'attestations respectifs : *DYN-16/2 - 06/96* et *DYN-16/1 - 06/96*)
- **Probelia Salmonella** (*n°* d'attestation : *SDP-07/2 - 06/96*).

↪ En outre, dans l'attente de l'examen de leur dossier, la validation de toutes les méthodes devant arriver en fin de validité au cours de ce trimestre, a été prolongée de quelques mois. Il s'agit des différents **Petrifilm P2000** de numération rapide des coliformes, à savoir :

- lecture à 14 h (*n°* d'attestation 3M-01/5-03/97A),
- lecture à 24 h des colonies gazogènes et non gazogènes (*n°* d'attestation 3M-01/5-03/97B),
- lecture à 24 h des coliformes gazogènes (*n°* d'attestation 3M-01/5-03/97C).

ainsi que du **Kit Tecra** de détection des salmonelles (*n°* d'attestation 3M-01/3-07/92).

↪ Enfin, la validation du système d'immuno-analyse mini VIDAS, avec le **kit VIDAS Listeria monocytogenes** (*n°* d'attestation *BIO 12/3 - 03/96*) a été reconduite, jusqu'au 26/3/2004.

↪ Nous avons reçu le texte correspondant à la validation de **ALOA / L. Monodisk**, de la société AES, signalée dans la Lettre de CECALAIT n° 35. (*n° d'attestation : AES 10/3 -09/00*). Il s'agit de la combinaison d'un milieu chromogène (ALOA) et d'un test de confirmation rapide (L Monodisk) pour la détection rapide de *Listeria monocytogenes*, applicable à tous les produits d'alimentation humaine.

Le milieu permet de détecter l'ensemble des *Listeria* par mise en évidence de l'enzyme β -glucosidase. Les colonies de *L. monocytogenes* s'y distinguent grâce à un halo dû à la précipitation de phospholipides coupés par une enzyme qui leur est spécifique. Cette méthode est moins lourde que la méthode de référence, puisqu'elle exige moins de boîtes et ne nécessite pas d'étape d'enrichissement secondaire. Les résultats positifs après 24h d'incubation ne requièrent pas de confirmation. Dans le cas de résultats positifs au bout de 48h d'incubation, le test de confirmation rapide est nécessaire. Au total, la méthode permet d'obtenir un résultat positif en 2 à 3 jours, contre 4 à 7 jours par la méthode de référence. Les résultats négatifs demandent 3 jours contre 5 à 7 jours par la méthode de référence. En outre, la sensibilité de cette méthode rapide, ainsi que ses performances de fidélité et de justesse, déterminée par rapport à la méthode de référence, sont bonnes.

↪ De même, le texte de l'attestation de validation du **VIDAS ECO-ICE**, vient de paraître. Produit et distribué par la société BioMérieux, ce test a été signalé dans la Lettre de CECALAIT n° 34. (*n° d'attestation : BIO 12/8 -07/00*). Il s'agit de la combinaison, applicable à tous les produits d'alimentation humaine, d'un test immuno-enzymatique, détectant les antigènes d'*Escherichia coli* O157 (ECO) et d'un test de confirmation par immuno-

concentration (ICE) à utiliser en complément du premier pour les échantillons présumés positifs.

La méthode permet d'obtenir un résultat négatif en 24h, contre 2 à 4 jours par la méthode de référence. Les résultats positifs demandent 3 jours contre 3 à 4 jours par la méthode de référence. La sensibilité de cette méthode rapide est bonne, meilleure que celle de la méthode de référence. Sa spécificité vis à vis des *E. coli* O157 a, de plus été bien établie, même en présence d'autres souches de *E. coli*. Enfin, ses performances de fidélité et de justesse, déterminée par rapport à la méthode de référence, sont bonnes.

➤ Depuis 1991, l'AOAC International (Association of Official Analytical Chemists), a développé une procédure de validation des méthodes alternatives commerciales d'analyse (cf Lettre de CECALAIT, n° 2). Tous les ans, une liste récapitulative des méthodes ainsi validées paraît dans Journal of AOAC International. La dernière en date a été publiée dans **JAOAC, 2000, Vol. 83, N°5, pg 74A-76A**. Elle comprend 35 méthodes au total : 10 pour la détection d'antibiotiques, 20 pour la détection de pathogènes (*Salmonella* et *Listeria* principalement) et 6 pour la recherche de toxines et contaminants divers. Huit méthodes sont à la fois validées par l'AFNOR et certifiées dans le cadre de cette procédure « AOAC Performance Tested methods ». Il s'agit de :

- Oxoid Rapid Test, Transia Plate *Salmonella* Elisa, Dynabeads, BAX, TECRA et EIAFoss pour la détection de *Salmonella* spp,
- Oxoid Rapid Test et Vidas pour la détection de *Listeria* spp.

Nouveautés dans la réglementation

FRANCE

Avis du 6 décembre 2000, relatif aux appareils d'analyse utilisés dans le cadre du paiement du lait en fonction de sa composition et de sa qualité Cet avis abroge l'avis précédent, sur le même thème, paru au JO du 30/7/1997. Il donne la liste des appareils autorisés d'emploi par la Commission Scientifique et Technique dans le cadre du paiement du lait.

avis du 8 décembre 2000, relatif aux méthodes d'analyse utilisables aux fins de paiement du lait de vache en fonction de sa composition et de sa qualité . Cet avis vient en complément de l'article 5 de l'arrêté du 28/7/2000 (modalités d'application du décret n°97-1319 du 30/12/1997 relatif aux modalités de paiement du lait de vache en fonction de sa composition et de sa qualité). Cet article spécifiait que seules sont utilisables dans le cadre du paiement du lait, les méthodes d'analyses chimiques et microbiologiques publiées par avis paru au JO, après avis de la Commission Scientifique et Technique.

Ces deux avis n'étant pas consultables sur Legifrance, nous reproduisons à la fin de cette Lettre les tableaux qu'ils contiennent.

décret 2000-1347 du 26 décembre 2000 relatif aux modalités de paiement du lait de chèvre en fonction de sa composition et de sa qualité (JO France du 30/12/2000). Ce texte abroge le décret n° 84-681 du 16/7/1984. Il rappelle les différents critères de composition et de qualité hygiénique et sanitaire pris en compte pour la définition du prix du lait de chèvre. Il rappelle également l'accord national – interprofessionnel- et les conventions qui lient producteurs, coopérateurs et transformateurs de lait de chèvre. Enfin, il spécifie qu'un arrêté ministériel fixe les modalités de prélèvement et d'analyses et précise les sanctions prévues pour le non respect des critères ou des grilles de classement de l'accord national pour la détermination du prix du lait.

Loi 2001-6 du 4 janvier 2001 portant diverses dispositions d'adaptation au droit communautaire en matière de santé des animaux et de qualité sanitaire des denrées d'origine animale et modifiant le code rural (JO France du 5/1/2001). Ce texte fixe certaines modalités d'application des contrôles de transport du lait.

Arrêté du 26 décembre 2000, relatif au retrait de la consommation humaine des denrées alimentaires d'origine animale contaminées par des résidus de pesticides (JO France du 21/1/2001). Ce texte est la transposition en droit français de la directive 2000/42 du 22/6/2000 (fenvalérate, triazophos...) que nous avons signalée précédemment.

Arrêté du 20 décembre 2000, modifiant l'arrêté du 21/12/1979, relatif aux critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certaines denrées animales ou d'origine animale (JO France du 1/2/2001).

Ce texte abroge les arrêtés suivants :

- 14/1/1980 fixant la réglementation des conditions d'hygiène relatives à la préparation, à l'entreposage, à la distribution et à la vente des **crèmes** destinées à la consommation humaine,
- 21/6/1982 fixant les normes d'hygiène et de salubrité auxquelles doit répondre le **lait pasteurisé conditionné**,
- 15/4/1986 relatif aux normes d'hygiène et de salubrité auxquelles doivent répondre le **beurre et les corps gras à base de matière grasse butyrique**.

Ce texte s'intéresse donc aux critères microbiologiques applicables jusqu'à leur **date limite de consommation** aux produits cités ci-dessus ainsi qu'aux différents produits liquides à base de laits traités thermiquement ou non, aux laits fermentés, aux laits gélifiés, aux glaces et crèmes glacées, aux fromages non affinés aux laits traités thermiquement, aux caséines et

caséinates. Par rapport aux textes antérieurs, il ne modifie que très peu de critères : la seule modification concerne la suppression du critère des coliformes fécaux pour les crèmes et son remplacement par un critère sur *Escherichia coli*, fixé à 10⁴/g de crème crue et 10³/g de crème pasteurisée. Les autres critères demeurent inchangés. En revanche, le texte procède à un regroupement notable entre catégories de produits : on passe ainsi de 4 catégories de beurres à 2, de 5 catégories de crèmes à 3... Enfin il a pour mérite de rassembler en un seul texte des critères auparavant dispersés dans 4 textes différents.

Arrêté du 19 février 2001, modifiant l'arrêté du 2/10/1997 modifié, relatif aux additifs pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine (JO France du 15/3/2001). Ce texte est la transposition en droit français de la directive 2000/51 du 26/7/2000 (mannitol et sirop de maltitol...) que nous avons signalée précédemment.

Arrêté du 7 mars 2001, abrogeant certains arrêtés relatifs au contrôle bactériologique et aux prescriptions en matière d'hygiène de produits laitiers (JO France du 17/3/2001). Les arrêtés abrogés sont :

- arrêté du 26/3/1956,
- arrêté du 13/8/1963,
- arrêté du 2/11/1971,
- arrêté du 25/1/1982,
- arrêté du 21/11/1983,
- arrêté du 17/9/1984,
- arrêté du 22/1/1987.

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

➤ à signaler également la parution de

Arrêté du 3 janvier 2001, modifiant l'arrêté du 14 septembre 1992, relatif aux matériaux et objets en matière plastique mis ou destinés à être mis au contact des denrées, produits et boissons alimentaires

Plusieurs guides de bonnes pratiques hygiéniques, dans les secteurs suivants :

- Brasserie
- Jus de fruits, nectars et produits dérivés
- Chocolaterie, confiserie
- Poissonnier détaillant
- Etablissements scolaires et universitaires

Ils peuvent être commandés depuis <http://djo.journal-officiel.gouv.fr/>, rubrique « ouvrages » ou par Minitel 3616 JOEL

➔ Note de service de la DGAI n° 2000-8155

Il faut saluer ce remarquable effort de synthèse ! En effet, cette note parue le 12 décembre 2000 recueille l'ensemble des **critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires**.

La base en est certes constituée par les critères établis par l'arrêté du 21/12/1979, mais complétée par toutes les valeurs fournies au fil du temps par une foule d'arrêtés modificatifs, ou spécifiques à certaines catégories d'aliments, par des notes de service de la DGAI etc... Un comptage rapide des sources citées dans cette note de service montre ainsi, qu'outre les critères de l'AM du 21/12/1979, elle se réfère aux données éparpillées dans pas moins de 15 arrêtés ministériels parus entre 1980 et 1997, 3 notes de service, une décision du JOCE et un avis aux importateurs !

Pour les produits laitiers, cette note réunit notamment les critères concernant :

- le lait d'un même producteur, destiné à un traitement thermique ou à une transformation au moment de la collecte,
- le lait cru pour la boisson et la vente directe (AM du 6/8/1985),
- le lait cru, matière première (AM du 18/3/1994),
- le lait de consommation à la mise sur le marché (AM du 30/3/1994),
- un certain nombre de produits laitiers à la distribution,
- les camemberts au lait cru, destinés au traitement ionisant,
- les fromages, poudres et autres produits à base de lait à leur mise sur le marché (AM du 30/3/1994),
- les aliments lactés destinés à une alimentation particulière (AM du 30/3/1978) et les hydrolysats de protéines (AM du 21/12/1988).

Toujours pour les produits laitiers, la note concernait également le lait pasteurisé conditionné, les crèmes destinées à la consommation humaine et les beurres... Les données fournies dans ces trois paragraphes sont malheureusement devenues caducques, dès la parution de l'AM du 20/12/2000, qui définit d'autres catégories et modifie l'intitulé des critères ! (cf ci-dessus).

EUROPE COMMUNAUTAIRE

Directives 2000/81/CE et 2000/82/CE de la Commission des 18 et 20 décembre 2000 modifiant les annexes des directives.....86/363/CEE concernant la fixation de teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur et dansles denrées alimentaires d'origine animale.... (JOCE L 326 du 22/12/2000 et JOCE L3 du 6/1/2001).

Ces textes complètent la liste des teneurs maximales de résidus de pesticides autorisées dans le lait cru avec les pesticides suivants : spiroxamine : 0,02 mg/kg, teneur maximale provisoire ; azinphos-éthyl, tecnazène, dinoterb, DNOC, prophame et monolinuron : 0,05 mg/kg ; pyrazophos : 0,02 mg/kg ; ces valeurs correspondant toutes au seuil de détection des techniques analytiques utilisées.

Règlement 2908/2000 du 29 décembre 2000 modifiant les annexes I et II du règlement n° 2377/90 du Conseil établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments

vétérinaires dans les aliments d'origine animale (JOCE L336 du 30/12/2000)

Ce texte rajoute le glycérophosphate de calcium à la liste des substances non soumises à une limite maximale de résidus. Il s'intéresse, en outre à certains antibiotiques, anti-inflammatoires et anti-parasitaires, en spécifiant leur LMR dans un certain nombre de denrées cibles. Le lait n'est toutefois pas concerné ici ; en effet, aucun des médicaments de cette liste modificative ne doit être utilisé chez les animaux produisant du lait destiné à la consommation humaine.

Directive 2001/5/CE du Parlement Européen et du Conseil du 12 février 2001 modifiant la directive 95/2/CE concernant les additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants (JOCE L 55 du 24/2/2001). Il s'agit de modifications mineures : quelques additifs supplémentaires autorisés, des précisions sur un domaine d'application pour un additif, des précisions d'étiquetage....

Règlement 213/2001 de la Commission du 9 janvier 2001 portant modalités d'application du règlement (CE) n° 1255/1999, en ce qui concerne les méthodes à utiliser pour l'analyse et l'évaluation de la qualité du lait et des produits laitiers et modifiant les règlements n° 2771/1999 et 2799/1999. (JOCE L37 du 7/2/2001).

Ce texte épais de 99 pages a pour ambition de fournir aux opérateurs du secteur laitier un seul texte de base regroupant les méthodes de référence et de routine à utiliser pour l'analyse et l'évaluation de la qualité du lait et des produits laitiers, ainsi que leur domaine et règles d'application. Ces points étaient auparavant éparpillés dans pas moins de 10 règlements différents, produits pour la plupart d'entre eux pendant toute la décennie 1990-2000, et aujourd'hui abrogés par ce texte (*cf ci-dessous la liste précise des règlements abrogés*).

On trouvera donc dans ce texte :

➔ Tout d'abord un certain nombre de dispositions générales :

- La liste des méthodes de référence applicables aux analyses du lait et des produits laitiers. Toute analyse effectuée dans le cadre de l'organisation commune des marchés dans le secteur du lait et des produits laitiers **doit** être effectuée selon une méthode figurant sur cette liste, qui doit être remise à jour annuellement. Il s'agit souvent de méthodes FIL, CEN, ISO ou AOAC ou de méthodes communautaires décrites alors dans les annexes suivantes. Quand il n'y a pas de méthode de référence, le texte renvoie à « *des méthodes approuvées par les autorités compétentes* » ! (annexe I)
- Une procédure de vérification des résultats obtenus par les méthodes de routine, puisque celles-ci ne sont pas exclues sous réserve d'un contrôle régulier par rapport aux méthodes de référence (annexe II),
- Une procédure de validation de la méthode de référence en vérifiant qu'elle est conforme à des critères de précision fixés par des limites de répétabilité et de reproductibilité (annexe III, basée sur la norme ISO 5725, pour des analyses chimiques). Le respect des limites doit être vérifié au moins une fois par

an. S'il s'avère que l'une d'elles a été dépassée, il faut alors évaluer les résultats selon la procédure décrite en annexe IV. Celle-ci permet de calculer à partir de la reproductibilité et de la répétabilité une différence critique qui doit être supérieure à la différence entre la moyenne des résultats et la limite.

- Une méthode interne de contrôle de la qualité des analyses chimiques, qui peut faire appel à des matériaux de référence ou à la participation à des essais d'aptitude (annexe V).
- Une procédure à suivre en cas de contestation des résultats d'analyse chimique (annexe VIII).
- Une méthode de référence pour l'évaluation sensorielle du beurre (annexe VII) –celle des autres produits laitiers devant se faire selon la norme FIL 99C:1997 ou une méthode équivalente-
- Une procédure générale d'évaluation des estimateurs et de la fiabilité des résultats d'analyses sensorielles (annexe VI).

➔ dix-sept descriptions de méthodes de référence concernant :

- la détermination par gravimétrie de la teneur en eau, en matières sèches non grasses et en matières grasses dans le beurre (respectivement annexes IX, X et XI).*
- la détermination de certains traceurs (vanilline, stigmastérol, etc) dans le beurre, le beurre concentré, la crème (annexes XII à XIV).*
- la détection par isoélectrofocalisation de la caséine de lait de vache dans les fromages au lait de chèvre, de brebis ou de bufflonne (annexe XV)*
- la détection des coliformes dans le beurre, le lait écrémé en poudre, la caséine et les caséinates, selon une méthode de nombre le plus probable, inspirée de la norme FIL 73A (annexe XVI)*
- la détermination de la teneur en lactose pour certains produits laitiers selon la méthode Luff-School
- la détection du lactosérum présure dans le lait écrémé en poudre (destiné au stockage public) par dosage des glycomacropéptides par HPLC (annexe XIX).
- la détection du babeurre dans le lait écrémé en poudre par dosage de la phosphatidylsérine et de la phosphatidyléthanolamine par HPLC (annexe XX).
- le dépistage de résidus d'inhibiteurs microbiens dans le lait écrémé en poudre à l'aide de test utilisant *Bacillus stearothermophilus* selon la procédure décrite en début du bulletin n° 258/1991 de la FIL (annexe XXI)
- la détermination de la teneur en lait écrémé en poudre dans les aliments composés pour animaux par coagulation enzymatique de la paracaséine (annexe XXII).
- la détection de la présence d'amidon dans le lait écrémé en poudre, le lait en poudre dénaturé et les aliments composés (annexe XXIII).

- la détermination par gravimétrie de la teneur en humidité du babeurre acide en poudre (annexe XXIV).

- la détection des matières grasses (animales et végétales) étrangères dans les matières grasses lactiques par analyse des triglycérides en chromatographie en phase gazeuse (annexe XXV)

** ces méthodes n'ont pas changé, à quelques modifications rédactionnelles mineures près, par rapport aux textes abrogés*

➔ les détails des modifications effectuées dans les règlements n° 2771/1999 et 2799/1999 (mesures diverses d'aide et d'intervention), ainsi que la liste précise des règlements abrogés. Il s'agit des règlements n°s 1216/68, 3942/92, 86/94, 2721/95, 1080/96, 1081/96, 1082/96, 1854/96, 880/98 et 1459/98.

Le règlement n°881/1999 qui établissait précédemment la liste des méthodes de référence à utiliser est abrogé de fait.

Règlement (CE) n° 466/2001 de la Commission du 8 mars 2001 portant fixation de **teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires** (JOCE L 77 du 16/3/2001). Ce texte abroge le règlement 194/97 et son modificatif n°1525/98 sur le même thème.

Il rajoute principalement une section consacrée aux teneurs maximales admissibles en métaux lourds. Les produits laitiers concernés sont le lait de vache et les préparations pour nourrissons, pour lesquels il est spécifié que la teneur maximale admissible en plomb est de **0,02 mg/kg** de produit frais. La teneur maximale en aflatoxine M1 reste inchangée par rapport aux textes antérieurs (0,05 µg/kg).

Directive 2001/22/CE de la Commission du 8 mars 2001 portant **fixation de modes de prélèvement d'échantillons et de méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en plomb, cadmium, mercure et 3-MCPD** dans les denrées alimentaires (JOCE L 77 du 16/3/2001). Ce texte précise les méthodes d'échantillonnage et de préparation des échantillons ainsi que les critères applicables aux méthodes d'analyse, à

utiliser dans le cadre du contrôle des teneurs maximales en contaminants fixées par le règlement ci-dessus.

➤ à signaler également la parution de

Décision 2001/204/EC du Conseil du 8 mars 2001 complétant la directive 90/219/CEE en ce qui concerne les critères permettant d'établir l'innocuité pour la santé humaine et l'environnement de **types de micro-organismes génétiquement modifiés** (JOCE L 73 du 15/3/2001)

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

Les textes plus anciens peuvent être consultés selon un classement thématique sur <http://europa.eu.int/eur-lex/fr/lif> ou commandés sur <http://www.eudor.com>

➔ à suivre ...

➤ Les propositions finales de règlements concernant les règles d'hygiène en matière de sécurité alimentaire (cf Lettre de CECALAIT n°s 34 & 35) sont parues courant décembre 2000. On les trouvera à l'adresse suivante : http://europa.eu.int/eur-lex/fr/com/dat/2000/fr_500PC438_01

➤ Un guide de 30 pages sur le contrôle de la qualité des analyses de résidus de pesticides (Guidelines for quality control procedures of pesticide residue analysis in the EU) dans l'UE a été publié (en anglais) le 1^{er} février 2001 sur le site de la DG Santé et Protection du Consommateur à l'adresse suivante http://europa.eu.int/comm/food/fs/ph_ps/pest/qualcontrol_en.pdf

➤ la nouvelle législation européenne sur les OGM a été définitivement adoptée par le Conseil des Ministres de l'UE le 15 février 2001 et entrera en vigueur 18 mois après sa parution au JOCE. Elle remplacera la directive 90/220 relative à la dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés dans l'environnement.

Brèves...

➤ La FDA (Food and Drug Administration) est en train de réfléchir à une modification de l'étiquetage nutritionnel. Le changement concernerait les acides gras *trans* et viserait entre autres à rendre leur étiquetage obligatoire et à les additionner aux acides gras saturés.

A suivre sur <http://www.fda.gov>

➤ En décembre 2000, lors de la négociation de la convention mondiale sur les polluants organiques persistants (POPs) à Johannesburg, 122 pays sont parvenus à un accord pour interdire ou limiter l'usage de 12 polluants organiques persistants . Il s'agit de substances diverses : pesticides, fluides thermiques....et notamment PCBs, dioxines et furanes.

RENDEZ-VOUS / FORTHCOMING EVENTS

➔ RAPPELS / REMINDER

RENSEIGNEMENTS / CONTACT

1-4 avril 2001 (**1-4 april 2001**)
ISTANBUL, TURQUIE (**TURKEY**)
11th European Congress of Clinical
Microbiology and infectious Diseases

Congress Secretariat
ESCMID Executive Office
c/o AKM Congress Service
P.O Box CH-4005 BASEL
SWITZERLAND

tel : 41/61.686.77.11
fax : 41/61.686.77.88
e-mail : info@akm.ch

22-27 avril 2001 (**22-27 april 2001**)
SEOUL, COREE DU SUD (**KOREA**)
11th IUFOST Congress
(*Congrès Mondial des Sciences et
Technologies de l'Alimentation*)
(*Food Science and Technology World
Congress*)

fax : 82/2.553.84.53
www.congress2001.or.kr

7-11 Mai 2001 (**7-11 May 2001**)
BUENOS AIRES, ARGENTINA
Legislation Week

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

Tel : 32/2.733.1690
Fax : 32/2.733.04.13
e-mail : info@fil-idf.org
<http://www.fil-idf.org>

13-18 mai 2001 (**14-18 may 2001**)
SAN PELLEGRINO, ITALY
Analytical Week and symposium

13-15 juin 2001 (**13-15 june 2001**)
EDE, PAYS-BAS (**NETHERLANDS**)
NIZO dairy conference on food microbes

Sarah WILKINSON
NIZO Dairy Conference Secretariat
Elsevier Science
The Boulevard
Langford Lane, Kidlington
OXFORD OX5 1GB, UK

Tel : 44/1865 843691
fax : 44/1865 843958
e-mail : sm.wilkinson@elsevier.co.uk
www.elsevier.nl/locate/nizodairy2001

➔ AUTRES MANIFESTATIONS / OTHER EVENTS

22 – 26 juin 2001
DIJON, FRANCE
4^e symposium Pangborn des sciences
sensorielles
4th Pangborn symposium on sensory science

INRA
17, rue Sully
BP 86510
21065 DIJON CEDEX

tel/fax : (33)(0)3 80 69 32 27
e-mail : pangborn.2001.dijon.inra.fr
www.dijon.inra.fr/aromes/pangborn

8-11 juillet 2001 (**8-11 july 2001**)
ZURICH, SUISSE (**SWITZERLAND**)
3rd International Symposium on propionibacteria

Propionibacterium symposium
Laboratory of Food Microbiology
Institute of Food Science
ETH LFO G19
CH-8092 ZURICH
SWITZERLAND

Tel : 41/1 632 33 33
fax : 41/1632 12 66
e-mail : propioni@ilw.agrl.ethz.ch
www.propioni.ethz.ch

18-20 juillet 2001 (**18-20 july 2001**)
MELBOURNE, AUSTRALIA
Farm to fork 2001

Kristine MANSER
DIAA Federal

tel : 61/3.9670 0422
fax : 61/3.9642 8144
e-mail : diaa@dairy.com.au

➔ AUTRES MANIFESTATIONS FIL / OTHER IDF EVENTS

septembre 2001 (**september 2001**)
CAMPOBASSO, ITALY
International Symposium
Milk protein polymorphism

FIL- IDF Secretariat



à retenir dans votre agenda / **to put in your diary**

21 juin 2001 (21 june 2001), PARIS

Assemblée générale CECALAIT..... (CECALAIT annual general meeting)

Du côté de la biblio

Vous trouverez ci-joint la liste complète des références repérées pour notre base de données sur les techniques analytiques laitières au cours du dernier trimestre.

Si vous souhaitez obtenir des précisions sur ces références, ou la copie d'un document signalé, n'hésitez pas à prendre contact avec nous.

➤ A signaler également la parution

- **FEDERIGHI Michel** *Campylobacter* et hygiène des aliments. Economica, Paris, 2000, 160 pages (ISBN 2-84054-061-4).
- **INSTITUT FRANÇAIS POUR LA NUTRITION**. Comprendre l'étiquetage alimentaire, 2^e édition, 28 pages (renseignements : 01.45.00.92.50)
- **MEFFRE Jean-Marie**. Guide pratique de la répression des fraudes. LAVOISIER Editeur, 2000, 290 pages
- **Le n° 355, 2000, du bulletin FIL** est le rapport annuel sur le marché mondial des produits laitiers : **World Dairy situation 2000**.
- **Dans le bulletin FIL n° 356, 2000** un dossier sur les eaux usées et les déchets de l'industrie laitière.
- **Dans ce même bulletin**, un autre dossier sur les risques de contamination du lait, à partir des boues de station d'épuration, de certains agents organiques (diéthyl-hexylphthalate) ou à partir des aliments pour animaux..
- **Le n° 339, février 2001 de la revue La Recherche**, numéro spécial consacré à la Sécurité Alimentaire
- **Dans la revue RLF, n° 607, 2000,**
 - un dossier « Femmes et nutrition » (p. 18)
 - un tour d'horizon des évolutions récentes en analyses physico-chimiques du lait (p.31)

**AVIS DU 6 DECEMBRE 2000, RELATIF AUX APPAREILS D'ANALYSE UTILISES DANS LE CADRE DU
PAIEMENT DU LAIT EN FONCTION DE SA COMPOSITION ET DE SA QUALITE**

type d'analyse		fabricant ou distributeur	désignation de l'appareil	date de l'autorisation
détermination de la composition		FOSS ELECTRIC	Milkoscan 4000	5/2/1996
			Milkoscan 203B	27/7/1982
			Milkoscan 300	23/3/1977
			Milkoscan 605 (A ou B)	30/9/1985
			Milkoscan 255 (A ou B)	5/2/1996
		Milkoscan 6000	23/12/2000	
		BERWIND	Multispec A et B	27/7/1982
		PERSTOP	Galaxy MI 600	16/7/1991
		HUMEAU	ATL 33	15/3/1999
		GROSSERON	CECIL 2000	15/3/1999
BENTLEY INSTRUMENTS	B 2000	23/11/2000		
dénombrement des germes totaux	compteurs directs	FOSS ELECTRIC	Bactoscan I et 8000	22/1/1986
			Bactoscan FC	7/12/1998
		BIOCOM	Cobra 2024	15/5/1991
			lecteur Asterias	7/9/1998
	compteurs de colonies	FOSS ELECTRIC	Biomatic	30/9/1985
		UTC	Seuc CC Z 80	27/7/1982
		AES	EC1	23/11/2000
dénombrement des leucocytes	FOSS ELECTRIC	Fossomatic 180 – 215 – 250 – 360	24/5/1995	
		Fossomatic 400	22/1/1997	
		Fossomatic 5000	19/6/1996	
	BENTLEY - AEGYS	Somacount 150 – 300 - 500	8/3/1995	
	ANADIS INSTRUMENTS	SCC 500	26/3/1997	
lecteur automatique de butyromètres		SIDENA	Butyna	13/1/1997

**AVIS DU 8 DECEMBRE 2000, RELATIF AUX METHODES D'ANALYSES UTILISABLES AUX FINS DE
PAIEMENT DU LAIT EN FONCTION DE SA COMPOSITION ET DE SA QUALITE**

Détermination	Méthode de référence	Méthode de routine / Appareillage
Matière grasse	acido-butyrométrie : AFNOR V 04-210 sep. 2000 Pipettes à lait de 11 ml : AFNOR B 35-523 dec. 1999 Butyromètres à lait : AFNOR B 35-521 sep 1997	Analyseurs infrarouge agréés par la Commission Scientifique et Technique (CST)
Matière protéique	Noir Amido AFNOR V 04-216 dec 1985	Analyseurs infrarouge agréés par la CST
Teneur en eau exogène dans le lait	point de congélation : cryoscope à thermistance AFNOR V 04-205, jan. 1990	Tri des échantillons par mesure de la conductivité Confirmation des résultats par méthode de référence
Indice de lipolyse	acidité libre dans le lait : méthode BDI in bulletin FIL n° 265 de 1991	voir ref 1
Qualité bactériologique (dénombrement des germes)	dénombrement de la flore aérobie mésophile : FIL 100B :1991	1) Méthode Thompson mécanisée 2) Compteurs d'UFC agréés par la CST
Qualité hygiénique	dénombrement des cellules somatiques : FIL 148A : 1995	Compteurs instantanés de cellules agréés par la CST et étalonnés à partir d'ETG fournis par CECALAIT
Qualité bactériologique (dénombrement des <i>Clostridia</i>)	dénombrement microbiologique par NPP	Dénombrement suivant ref 2
Qualité sanitaire	détection des antibiotiques et sulfamides selon ref 3	Méthode de référence Utilisation de microplaques pour test d'acidification tolérée en pratique

Abréviations :

AFNOR : Association Française de Normalisation
BDI :Bureau of Dairy Industry
CNERNA : Centre national d'études et de recommandations pour la nutrition et l'alimentation
CNIEL : Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière
CST : Commission Scientifique et Technique
ETG : échantillon à teneur garantie
FIL : Fédération Internationale de Laiterie = IDF
NPP : nombre le plus probable
UFC : unité formant colonie

Ref 1 : Méthode aux savons de cuivre, décrite dans le document CNIEL, ref Prot MSCu 03-02/00, rédigé par CECALAIT, d'après le protocole décrit dans le Bulletin FIL n° 265 de 1991

Ref 2 : CNERNA : Recommandations pour l'estimation de la contamination du lait en spores de *Clostridia*. Revue Laitière Française, 1986, n° 451 (avril), p. 39-45

Ref 3 : Annexe de l'arrêté du 2 septembre 1983 fixant les méthodes officielles d'analyses relatives à la détection des antibiotiques et des sulfamides dans les laits destinés à l'alimentation humaine ou animale (JO France du 6/10/1983)

La Lettre de CECALAIT est éditée par CECALAIT, BP 89, 39801 POLIGNY CEDEX
CECALAIT : association. Président : Laurent DEVELET ; Vice-Président : Michel PLACE;
Trésorier : Jean SEEGERS ; Directeur : Hugues DAMOUR
Directeur de la publication : Laurent DEVELET
Responsable de la rédaction : Annette BAPTISTE
Impression : CECALAIT, BP 89, 39801 POLIGNY CEDEX
1^{er} trimestre 2001
Dépôt légal : à parution
ISSN : en cours