

Maisons-Alfort, le 14 mars 2005

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif aux critères microbiologiques présentés dans le projet de règlement concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires SANCO 4198/2001 rev 14.

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) s'est auto-saisie d'une demande d'avis relatif aux critères microbiologiques présentés dans le projet de règlement (SANCO 4198/2001 rev 14) concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.

Eléments de contexte

Dans le cadre de la refonte de la réglementation relative à l'hygiène des denrées alimentaires, un projet de règlement relatif aux critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires est en cours de rédaction par la Commission européenne. Ce projet devrait être examiné lors d'une des prochaines réunions du Comité permanent de la chaîne alimentaire et de la santé animale, en vue d'une mise en place dans les Etats membres en janvier 2006. Toutefois, la dernière version disponible de ce projet de règlement pose un certain nombre de questions en matière de sécurité sanitaire que l'Afssa considère comme devant faire l'objet d'une expertise spécifique. Il s'agit :

- Des critères relatifs aux produits de la pêche et aux *Enterobacteriaceae* dans les formules en poudre pour enfants,
- Des méthodes d'analyse,
- Des méthodes de prélèvement.

Suite à la consultation d'experts et à la validation par le président du Comité d'Experts Spécialisé « Microbiologie », l'Afssa rend l'avis suivant :

I - S'agissant des critères relatifs aux produits de la pêche

Etat des lieux du projet (version 14) de règlement sur les critères microbiologiques applicables aux produits de la pêche

Critères applicables au poisson

Critères impératifs

- Concernant *Listeria monocytogenes* (p13) :

Pour les produits à consommer en l'état permettant la croissance de *L. monocytogenes*, il est prévu un seuil de :

- 100 cfu / g si le fabricant est capable de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit n'excèdera pas 100/g jusqu'à la DLC,
- absence dans 25 g s'il n'est pas en mesure de le démontrer.

- Concernant l'**Histamine** (p 18) :

Concernant les espèces de poissons riches en histidine, il est prévu un seuil de :

- 100 ppm,
- et une tolérance jusque 200 ppm dans certaines conditions.

Critères de process

Aucun critère de process n'est prévu dans le projet de règlement.

Critères applicables à d'autres produits de la pêche

Critères impératifs

-Concernant **Salmonella** (p17), il est prévu un seuil de

- absence dans 25 g pour les coquillages vivants et mollusques cuits.

-Concernant **E. coli** (p18), il est prévu un seuil de :

- < 230 / 100g pour les coquillages vivants.

Critères de process

-Concernant **E. coli** (p30), il est prévu un seuil de :

- <1 cfu / g pour les crustacés et mollusques cuits

-Concernant **Staphylococcus coagulase +** (p30), il est prévu un seuil de :

- <100 cfu / g pour les crustacés et mollusques cuits

Suite à l'examen par les experts, plusieurs modifications sont proposées :

Salmonella

Texte réglementaire		Critère microbiologique
Réglementation nationale	Arrêté ¹ du 21/12/79	absence dans 25 g (tous produits de la pêche)
Réglementation communautaire	Projet de règlement SANCO 4198/2001	pas de critère <i>Salmonella</i> (sauf coquillages vivants - crustacés et mollusques cuits)
	Modification proposée dans le projet de règlement	critère <i>Salmonella</i> pour tous produits de la pêche

Argumentaire : La présence de *Salmonella* chez les poissons est d'origine exogène, elle est donc improbable lorsque les règles d'hygiène sont parfaitement respectées. Elle est pourtant constatée dans le cas de certaines origines géographiques chez les poissons mais aussi chez les crustacés et mollusques. Même si les produits sont destinés à la cuisson, il convient de détecter les *Salmonella* compte-tenu des risques de contamination croisée ou de recontamination. Ce risque *Salmonella* est très faible pour les origines où les règles d'hygiène sont respectées, il n'est pas négligeable pour d'autres origines géographiques, ce qui justifie un critère *Salmonella* pour tous les produits de la pêche.

Staphylococcus à coagulase positive

Texte réglementaire		Critère microbiologique
Réglementation nationale	Arrêté ¹ du 21/12/79	inférieur à 100 / g (tous produits de la pêche manipulés)
Réglementation communautaire	Projet de règlement SANCO 4198/2001	pas de critère <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive (sauf crustacés et mollusques cuits)
	Modification proposée dans le projet de règlement	critère <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive pour tous produits de la pêche manipulés.

Argumentaire : Les *Staphylococcus* à coagulase positive ont souvent pour origine la peau et l'appareil respiratoire de l'homme. De ce fait un critère réglementaire est nécessaire pour tous les produits manipulés, cuits ou non, compte-tenu des risques de recontamination.

Escherichia coli

Texte réglementaire		Critère microbiologique
Réglementation nationale	Arrêté ¹ du 21/12/79	les <i>E. coli</i> n 'étaient pas recherchés, mais les coliformes thermotolérants étaient dénombrés dans tous les produits de la pêche
Réglementation communautaire	Projet de règlement SANCO 4198/2001	pas de critère <i>E. coli</i> (sauf coquillages vivants - crustacés et mollusques cuits)
	Modification proposée dans le projet de règlement	critère <i>E. coli</i> pour tous produits de la pêche

Argumentaire : Traditionnellement les coliformes thermotolérants (cultivant à 44°C) étaient utilisés comme germes traceurs de la contamination fécale, or ils constituent un groupe bactérien sans signification taxonomique dont l'origine fécale n'est pas toujours confirmée. Les microbiologistes préfèrent aujourd'hui le dénombrement direct d'*E. coli* dont l'écologie est étroitement liée au tube digestif des animaux à sang chaud : il permet de suivre l'hygiène du personnel de fabrication ainsi que l'incidence des transformations. Les germes indicateurs disparaissent du règlement, mais, compte-tenu du nombre extrêmement restreint de critères microbiologiques retenus pour les produits de la pêche, il est hautement souhaitable de maintenir un critère *E. coli*. Ce critère constituerait un indicateur plus nécessaire encore si le critère *Salmonella* n'était pas étendu à l'ensemble des produits de la pêche.

Listeria monocytogenes (Rev. 14. p13 : ready-to-eat foods)

Le choix des limites (100 UFC / g ou absence dans 25 g) repose sur une démonstration (remarques 4 et 5) qui n'est pas suffisamment définie. Sans protocole plus formalisé, le choix sera fatalement arbitraire.

II - S'agissant de la proposition de critère relatif aux *Enterobacteriaceae* dans les formules en poudre pour enfants

Rappel des données soumises à expertise :

Commission proposal for a new microbiological criterion for powdered infant formula

SANCO 4198/2001, revision 15

Draft Commission Regulation on microbiological criteria for foostuffs

A new Recital No 17:

The European Food Safety Authority's (EFSA) Scientific Panel on Biological Hazards (BIOHAZ Panel) issued an opinion on the microbiological risks in infant formulae and follow-on formulae on 9 September 2004. The Panel concluded that *Salmonella* and *Enterobacter sakazakii* are the micro-organisms of greatest concern in infant formulae, formulae for special medical purposes and follow-on formulae. The presence of these pathogens constitutes a considerable risk if conditions after reconstitution permit multiplication. According to the scientific opinion introduction of a microbiological criterion for *Salmonella* and *E. sakazakii* is not recommended. *Enterobacteriaceae*, which are more present, could be used as an indicator for risk and a criterion established for the presence of *Enterobacteriaceae* in dried infant formula. It is suggested that the specific criteria be strict. Monitoring and testing of *Enterobacteriaceae* was recommended in both the environment and the finished product.

Annex I, Chapter 1, point 1.23

Food category	Micro-organisms / Metabolites	Sampling plan ¹		Limits		Analytical reference method ²	Stage where the criterion applies
		n	c	m	M		
Dried infant formula ^{footnote}	<i>Enterobacteriaceae</i>	10	0	Absence in 10 g		ISO 21528-1	Products ready to be placed on the market and during their shelf-life

^{Footnote} Infant formulae as defined in Article 1 of Directive 91/321/EEC

Article 5, paragraph 2, 1th indent:
The last sentence added (bold).

Article 5 - Specific rules for testing and sampling

1. When compliance with the criteria set down in Annex I is being tested the analytical methods and the sampling plans and methods in Annex I shall be applied as reference methods. Food business operators may use other sampling and testing procedures, when the operator can demonstrate to the satisfaction of the competent authority, that these procedures provide at least equivalent guarantees. These procedures may include use of alternative sampling sites or steps, testing against alternative indicator microorganisms or microbiological limits, use of trend analyses as well as testing of analytes other than microbiological ones. Also the number of units comprising the sample may be modified according to the intended purpose of the sampling ;
2. In particular, samples shall be taken from processing areas and equipment used in food production, when such a sampling is necessary for ensuring that the criteria are met. In this sampling the ISO standard 18593 shall be used as a reference method. Food business operators manufacturing ready-to-eat foods, which may pose a *L. monocytogenes* risk for public health, shall always sample the processing areas and equipment for *L. monocytogenes* as part of their sampling scheme. **Food business operators manufacturing dried infant formulae, which pose an *Enterobacter sakazakii* risk, shall always monitor**

the processing area and equipment for Enterobacteriaceae as part of their sampling scheme :

3. the number of sample units to be taken in routine sampling may be reduced, if the food business operator can demonstrate by historical documentation, that he has effective HACCP-based procedures ;
4. when the aim of the testing is to specifically assess the acceptability of a certain batch of foodstuffs or a process, the sampling plans set down in Annex I shall be respected as a minimum,

the use of alternative analytical methods is acceptable, when the methods are validated against the reference method in Annex I and, if a proprietary method, certified by a third party in accordance with the protocol set in EN/ISO standard 16140 or other internationally accepted similar protocols. If the food business operator wishes to use analytical methods other than those validated and certified as described above, the methods shall be validated according to internationally accepted protocols and their use authorised by the competent authority.

Notion de critère microbiologique:

Concernant le projet de Règlement européen sur les critères microbiologiques, c'est un critère microbiologique impératif/obligatoire qui est inclus dans un texte réglementaire. Le fait de ne pas le respecter peut entraîner un retrait ou rappel du marché des produits déjà commercialisés, si ce n'est au pire une fermeture administrative de l'établissement. Dans ces conditions, les critères obligatoires ne devraient concerner que les microorganismes mettant en cause directement la santé publique pour le produit concerné. Les limites pour les microorganismes non-pathogènes peuvent être nécessaires comme indicateurs quand les méthodes de détection pour les pathogènes sont lourdes, peu fiables, ou non disponibles dans certains cas.

Commentaire général :

La mise en place d'un critère microbiologique absence d'*Enterobacteriaceae* dans 10 g de produits infantiles avec $n=10$ et $c=0$ semble être sévère. Par sa valeur de bio-indicateur de la présence éventuelle d'ES, il remplacera l'ancien critère microbiologique coliformes, $n=5$, $c=1$, plan à 3 classes, $m<3/g$, $M=20/g$. Il semble en effet qu'il vaut mieux relier *E. sakazakii* aux *Enterobacteriaceae* qu'aux coliformes.

Suite aux différentes réunions à l'Autorité Européenne de Sécurité Alimentaire (EFSA) afin d'établir le rapport sur les risques microbiologiques pour les préparations pour nourrissons et de suite, il est apparu qu'un critère microbiologique était recommandé au gestionnaire de risque en dernier ressort et à lier avec un objectif de performance. Cependant, un objectif de sécurité alimentaire (« *Not be present in servings for the high risk groups* ») et/ou des objectifs de performance (par exemple, absence dans 1, 10 ou 100 kg) seraient les mesures les plus adaptées à la gestion du risque *E. sakazakii*.

Toutefois, à court terme et pour éviter que ne se reproduisent des situations semblables à celles rencontrées fin 2004 en France, la mise en place rapide de guides de bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication au niveau des fabricants et des consommateurs/utilisateurs semble assurer une meilleure gestion de ce risque. En effet, le critère microbiologique risquerait au stade où il pourrait être appliqué de déresponsabiliser l'utilisateur de ces préparations avec un impact économique évident sur le prix d'achat du produit. En outre, compte tenu des faibles niveaux de contamination habituellement rencontrés, l'échantillonnage et l'analyse systématique d'échantillons ne permettent pas d'assurer l'absence dans l'intégralité du lot du produit et ne sont donc pas suffisantes pour assurer la sécurité sanitaire du produit.

En définitive, accompagnant ces guides, au niveau industriel, il est primordial d'assurer un suivi des *Enterobacteriaceae* comme bio-indicateur de présence d'*E. sakazakii* dans les préparations pour nourrissons ou dans l'environnement industriel. En effet, il semble que la présence d'*E. sakazakii* dans les préparations pour nourrissons proviendrait essentiellement d'une recontamination par l'environnement industriel (et peu de la matière première). Par ailleurs, il

semble plus efficace d'établir un critère sur *Enterobacteriaceae* que sur *E. sakazakii*, ce dernier étant présent à de trop faibles niveaux dans les préparations pour nourrissons pour qu'un contrôle systématique soit utile (risque élevé de ne pas détecter ES bien que présent dans le lot de fabrication). En conclusion, le contrôle et la maîtrise de la concentration et de la prévalence d'*Enterobacteriaceae* à la fois dans l'environnement et dans le produit fini sont donc nécessaires.

Commentaire technique sur la matrice du critère microbiologique :

Les « produits infantiles en poudre » (et non l'appellation commune : « poudre de lait » ou « produit à base de poudre de lait ») sont définis (et traduits) dans l'article 1 point 2 de la Directive 91/321/CEE du 14 mai 1991 (amendé par la Directive 2003/14/CEE du 10 février 2003). Cependant il faut bien signaler qu'il s'agit uniquement des :

- **Préparations pour nourrissons** (Infant formulae, en anglais) : « les denrées destinées à l'alimentation particulière des nourrissons pendant les quatre à six premiers mois de leur vie et répondant à elles seules aux besoins nutritionnels de cette catégorie de personnes » ;
- **Préparations de suite** (Follow-up infant formulae en anglais) : « les denrées alimentaires destinées à l'alimentation particulière, des nourrissons de plus de quatre mois et constituant le principal élément liquide d'une alimentation progressivement diversifiée de cette catégorie de personnes ».

Par contre, la Directive a implicitement englobé mais n'a pas défini les préparations pour nourrissons à usage médical (Follow-up infant formulae, en anglais) qui elles se trouvent dans la Directive 1999/21/CE « Foods for Special Medical Purposes intended for infants ».

L'avis de l'EFSA n'englobe donc normalement pas les « Follow-on formulae », puisque la population à risque pour les infections à *E. sakazakii* sont les prématurés de moins de 4 semaines, mais qui, par un problème de traduction, a été englobée dans cet avis pour le risque *E. sakazakii*.

Le critère microbiologique doit donc couvrir les préparations pour nourrissons dont celles à usage médical.

L'utilisation de la formule liquide stérilisée de ces préparations doit également être intégrée dans ce critère microbiologique pour assurer la sécurité sanitaire de ces aliments.

En outre, comment doit-on considérer les laits maternels des lactariums de France qui sont lyophilisés pour leur transport et reconstitués dans certains hôpitaux : est-ce une préparation pour nourrissons ?

Commentaire technique relatif aux microorganismes cibles :

Il faut considérer deux aspects du problème : en terme scientifique et de politique de santé publique ou de sécurité sanitaire des aliments concernés.

- **En terme scientifique**, le microorganisme cible *Enterobacter sakazakii* devrait être choisi mais outre le fait qu'à ce jour il n'existe qu'un projet de norme FIL/ISO sur sa détection dans les produits laitiers, cette méthode ne peut garantir qu'à chaque fois ce microorganisme sera détecté. En effet, des essais d'aptitude ont démontré que parfois par la voie de la détection/dénombrement des *Enterobacteriaceae* on pouvait retrouver *E. sakazakii* alors qu'il n'était pas détecté par la voie spécifique *E. sakazakii*. On a donc bien un bon indicateur du microorganisme *E. sakazakii* par la recherche/dénombrement des *Enterobacteriaceae*, outre le fait qu'ils soient de bons indicateurs d'hygiène.
- **En terme de politique de santé publique ou de sécurité sanitaire des aliments concernés**, il est rapporté que dans la famille des *Enterobacteriaceae* des genres/espèces autres que *E. sakazakii* commencent à être incriminés dans des méningites de prématurés comme *Citrobacter diversus* ou *freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*. Ainsi le choix des *Enterobacteriaceae* dans ce critère englobe les futurs risques microbiologiques émergents. Cependant, tous les membres des *Enterobacteriaceae* ne sont pas

pathogènes et donc la famille recherchée est donc bien à considérer comme un bio indicateur et non comme des microorganismes opportunistes.

Par contre, le contrôle au niveau industriel des *E. sakazakii* est profondément différent de celui des *Salmonella spp.* Par exemple, l'utilisation d'eau est une source inévitable de développement des *Enterobacteriaceae*, donc de *E. sakazakii* en particulier. Si les processus de nettoyage-désinfection sans eau des installations en place de production permettent de diminuer le risque de développement de *E. sakazakii*, ils augmentent en revanche le risque allergène chez les enfants. Il y a donc un équilibre à trouver, et dans l'idéal, on devrait donc travailler en salle blanche si l'on veut une absence d'*Enterobacteriaceae* !

Commentaire sur le plan d'échantillonnage et les limites :

Si l'on considère que la contamination peut être de 1000 à 10000 bactéries *E. sakazakii* pour 1 tonne de produits et qu'un lot peut atteindre 1 à 20 tonnes, (selon l'interprofession des préparations pour nourrissons et de suite en poudre), ce plan d'échantillonnage paraît faible surtout en terme de niveau de qualité acceptable (NQA) par rapport à ce qui est exigé pour les produits également en boîtage tels que les produits appertisés et assimilés.

Le groupe de travail sur les préparations pour nourrissons et de suite du *Codex Alimentarius* a suivi les recommandations de l'ICMSF pour définir le critère microbiologique *E. sakazakii*, soit $n=30$ et $c=0$ (absence dans 10 g); ce qui paraît être plus judicieux tout en rappelant que pour le critère *Salmonella*, l'ICMSF recommande un plan $n=60$ et $c=0$ (absence dans 25 g), pour une raison de concordance. La notion de $c=0$ est stricte mais moins que de demander la stérilité de ces préparations.

En outre, ce projet de critère européen reflète pourtant bien à l'heure actuelle le projet élaboré par le groupe de travail du *Codex Alimentarius* sur la révision du code « *Recommended International Code of Practice for foods for infants and children* », avec comme principe que la réduction du niveau d'*Enterobacteriaceae* dans les préparations pour nourrissons permettra d'abaisser le niveau d'*E. sakazakii*.

Quant à la notion d'absence (ou « tolérance zéro »), elle est illusoire car le seuil de détection des méthodes est à l'heure actuelle au mieux de 1 ufc/100 g pour *E. sakazakii*, la bactérie est stressée par la dessiccation, donc difficilement cultivable, et les recherches sur les microorganismes viables non cultivables démontrent qu'il faudrait raisonnablement évoluer scientifiquement vers la notion de « non détectable ».

A ce titre, les données préliminaires obtenus de l'INVS sur l'enquête épidémiologique sur les infections et colonisations françaises en fin 2004 - début 2005 montrent que le taux de contamination des préparations pour nourrissons en poudre était de l'ordre de 1 à 10 bactéries *E. sakazakii* pour 100 g et qu'il existe « *une grande hétérogénéité de la contamination au sein du même lot de poudre : en dessous de 100 g, l'effet aléatoire de la prise d'essai est très visible* ». De la littérature internationale, on peut estimer qu'en général les échantillons positifs contiennent 0.36 à 1 ufc/100g.

Quant à la recherche dans 10 g, la littérature démontre qu'au vu de la faible contamination des préparations pour nourrissons en poudre et de l'hétérogénéité de la contamination dans le produit, une recherche de *E. sakazakii* dans 100 g est préférable. On a donc un critère microbiologique final (sur *Enterobacteriaceae*) de « absence dans 10 x 10 g » ce qui est normalement à appliquer à un individu et pas à 10 individus. Rappelons que la méthode FDA recherche *Enterobacter sakazakii* dans 333 g. Outre le fait de la prise de conscience de problèmes de capacités analytiques au sein du contrôle officiel, la proposition $n=10$ $c=0$ Absence dans 100 g ou encore mieux $n=30$ $c=0$ Absence dans 100 g serait plus approprié.

Commentaire sur le plan à 2 classes choisi :

Il est difficile sans nul doute d'utiliser un plan à 3 classes étant donné que la dose minimale infectieuse pour *E. sakazakii* est inconnue.

Par contre, le plan à deux classes peut être utilisé mais le choix absence/présence n'est pas idoine. Un plan à deux classes est plus utilisé pour un microorganisme cible et non pour un bio-indicateur bactérien. Il faudrait mieux mettre une valeur seuil de 1 cfu /100 g.

Pour obtenir un plan à 3 classes de la même sévérité que le plan à 2 classes proposés, il faudrait prendre par exemple $n = 15$, $m = 0,1/g$, $M = 1/g$ et $c = 1$. La praticabilité d'utilisation d'un tel plan avec $m = 0,1/g$ peut être difficile et d'un point de vue analytique un plan à 2 classes est plus facile à effectuer.

Commentaire sur la méthode de référence utilisé :

L'ISO 21528-1 permet de détecter les *Enterobacteriaceae* après enrichissement mais il manque une phase importante qu'est l'identification de ces *Enterobacteriaceae*. Cette méthode n'assure pas une identification aux genres/espèces des colonies : ce n'est pas son objectif et simplement l'appartenance à la famille est confirmée. Rappelons que des genres bactériens de cette famille ne sont pas pour l'instant tous pathogènes pour l'homme. Il est toujours en discussion, à l'image d'autres pathogènes, de fixer un seuil d'*Enterobacteriaceae* par exemple 3 ou 10 à partir duquel on devrait identifier les colonies et ne pas détecter d'*E. sakazakii*.

En outre, le projet de norme FIL/ISO de détection d'*E. sakazakii* dans les produits laitiers ne possède pas encore une validation technique indépendante suffisante et une définition des performances de la méthode.

Commentaire sur le stade d'application du critère :

Le stade d'application du critère au niveau sortie usines et étalage est correcte pour ce critère microbiologique. Il n'y a bien qu'une notion d'Objectif de Sécurité Alimentaire (FSO) allant jusqu'au stade consommation qui pourrait garantir une gestion du risque.

La communication sur ce risque *E. sakazakii* et l'établissement de guide de bonnes pratiques d'hygiène au niveau des producteurs et des utilisateurs/consommateurs de préparations pour nourrissons en poudre serait à effectuer.

Conclusion :

Il faudrait proposer la modification suivante concernant ce critère microbiologique :

Si l'on veut assurer une sécurité sanitaire du produit envers *E. sakazakii* et d'autres microorganismes opportunistes des *Enterobacteriaceae* pour les nourrissons, il faut prendre l'option (1) mais qui ne doit pas être confondue avec un critère indicateur ;

Si l'on veut assurer une sécurité sanitaire du produit envers *E. sakazakii* uniquement, il faut prendre l'option (2) qui est un critère obligatoire.

Food category	Micro-organisms / Metabolites	Sampling plan ¹		Limits		Analytical reference method ²	Stage where the criterion applies
		n	c	m	M		
(1) Dried infant formulae	<i>Enterobacteriaceae</i>	10	0	Non detectable (Absence) in 10 g		ISO 21528- 1	Products ready to be placed on the market and during their shelf-life
(2) Dried infant formulae	<i>Enterobacter sakazakii</i>	30	0	Less than 1 in 10 g		ISO/FIL Project	Products ready to be placed on the market and during their shelf-life

Il convient également d'insister, comme l'a précisé l'ICMSF au groupe de travail sur les préparations pour nourrissons et de suite du *Codex Alimentarius*, sur le fait que ce critère microbiologique doit être accompagné de guides de bonnes pratiques d'hygiène au niveau des producteurs et des utilisateurs/consommateurs afin de permettre une gestion idoine de ce risque.

III - S'agissant des méthodes d'analyse

En ce qui concerne l'article 5, paragraphe 2, 4^{ème} tiret du projet de règlement SANCO 4198/2001 rev14, il est suggéré l'ajout de deux dispositions :

- Utilisation de méthodes alternatives
Afin de se prémunir contre tout risque de résultat faux positif, prévoir l'exigence de confirmation systématique des résultats trouvés positifs par une méthode alternative, selon les modalités de la Validation AFNOR (méthode de référence, ou méthode de principe différent, ou autre méthode validée de principe différent).
- Isolement et conservation de souches
En cas de résultat positif lors de la détection d'un germe pathogène, prévoir l'isolement et la conservation de la souche, pour une durée à définir (par exemple 1 an). Cette disposition serait justifiée pour des raisons épidémiologiques, et permettrait au centre de référence de caractériser la souche, notamment en cas d'investigation de TIAC¹.

IV- S'agissant des méthodes de prélèvement

Le point 3 de l'annexe 1 décrit sommairement les règles à observer pour l'échantillonnage et la préparation des échantillons.

Une différence importante apparaît entre les méthodes proposées pour les prélèvements réalisés à partir des carcasses de bovins, de porcs, de moutons, de caprins et de chevaux d'une part, et celles de volailles d'autre part. En effet, pour les premières, 2 méthodes sont décrites :

- Pour la recherche des Entérobactéries et de la flore totale, une méthode destructive est proposée (« shall be sampled ») par l'excision de tissus (muscle ? couenne ?) ; curieusement il est également proposé une seconde méthode, non destructive, pour la recherche de ces micro-organismes, sans justification dans le choix de l'une ou l'autre d'entre elles ;
- Pour la recherche de *Salmonella* spp. , il est proposé une seule méthode, non destructive, par application d'une éponge abrasive sur 100 cm² de la surface de la carcasse, sans définir clairement le site de prélèvement. Cinq carcasses doivent être analysées.

Pour les carcasses de volailles, il est prévu d'appliquer une méthode destructive par prélèvement de peau du cou de 10 grammes sur 3 carcasses regroupées : l'analyse finale se fait sur 25 g et l'interprétation sur 10 répétitions de 5 fois 25 grammes.

Le choix de ces différentes méthodes n'est à aucun moment justifié. Or, il est reconnu que les méthodes destructives (excision d'un morceau de peau, de couennes ou de la partie superficielle d'une masse musculaire) permettent la récupération du plus grand nombre de microorganismes présents dans l'échantillon (à l'extrême, l'ensemble de ces bactéries). A l'inverse, les méthodes non destructives (écouvillonnages) ne permettent la récupération que d'une faible proportion des microorganismes présents (10%), même si l'application d'une méthode abrasive améliore ce pourcentage de récupération. Il est par ailleurs reconnu que les résultats obtenus par l'application d'une méthode destructive sont plus homogènes, dans leur répétabilité, notamment du fait de l'absence d'un facteur important de variabilité représenté par la force appliquée par l'opérateur pour réaliser le prélèvement.

¹ Toxi-infection alimentaire collective

Outre la méthode, une différence apparaît dans la localisation du site de prélèvement sur la carcasse : il est recommandé de prélever un morceau de peau du cou pour les volailles, mais aucune précision n'est apportée pour les autres catégories d'animaux. Or, il est reconnu que les parties « basses » des carcasses, au moment de l'abattage, sont celles le plus fréquemment et le plus fortement contaminées. Dans le cas des volailles, ce prélèvement d'un morceau de peau du cou est donc le plus « sécuritaire ». Pour les autres, le libre choix est laissé aux opérateurs.

Pour l'interprétation des résultats vis à vis de la présence de *Salmonella* spp. sur les carcasses, et notamment dans la mise en place de mesures correctives, des différences existent également entre la présence sur les carcasses de bovins, ovins, caprins et chevaux (2+/50), de porcs (5+/50) et de volailles (7+/50 dans 25 grammes). Aucune justification n'est apportée sur ces différences dans la mise en place de mesures correctives à partir de résultats obtenus sur des carcasses en fin de chaîne d'abattage ou après réfrigération. Le risque de transmission dans la chaîne alimentaire n'est-il pas le même ?

En conclusion, il semble qu'une disparité existe entre les méthodes de prélèvements, en fonction des denrées animales concernées. Ce texte est relativement « dur » tant dans la méthode de prélèvements que dans l'interprétation des résultats pour certaines catégories de viandes (volailles), et probablement trop « laxiste » pour d'autres (porcs, bovins), sans qu'il y ait une justification scientifique de l'implication de ces différents produits dans les toxi-infections alimentaires, même si l'on sait que la prévalence de *Salmonella* spp. est plus importante dans les filières avicoles (on cuit autant, voire plus, les viandes de volailles que les autres). Dans ces conditions, ne serait-il pas judicieux d'harmoniser les méthodes de prélèvements sur la base d'une technique destructive appliquée sur les parties basses des carcasses (peau du cou des volailles, couenne au niveau de la plaie de saignée pour les porcs, partie superficielle du muscle pour les carcasses « déshabillées »), les quantités prélevées, le nombre d'échantillons... ainsi que les critères à partir desquels des mesures correctives seraient appliquées ? Cette harmonisation permettrait probablement d'obtenir des données comparables sur la prévalence des Salmonelles sur les carcasses prélevées en fin de chaîne d'abattage.

L'annexe II de ce projet, relatif à l'article 3(2), indique très sommairement les études qui doivent être menées par les Industriels, dans le but de vérifier la conformité de leurs produits, notamment au cours de leur durée de vie. Ces études devraient intégrer, si nécessaire, pour les produits prêts à être consommés, des tests de croissance (challenge-tests, microbiologie prévisionnelle...) notamment pour *Listeria monocytogenes*.

Aucune indication n'est apportée sur la manière de réaliser ces tests. Ceci paraît relativement dangereux car pour ces produits, le dépassement du critère impératif (100 / gramme) entraîne le retrait systématique du lot. Une référence au travail réalisé en France, et peut-être dans d'autres Etats Membres, sur les bases indispensables à la réalisation de ces tests, serait peut être utile. En complément, il est nécessaire d'informer la Commission européenne, sur la nécessité d'une normalisation de ces tests.

Avis de l’Afssa

Tels sont les éléments d’analyse que l’Afssa est en mesure de fournir aux autorités sanitaires françaises qui ont la charge de contribuer à l’élaboration finale du projet de règlement relatifs aux critères microbiologiques appliqués aux dentées alimentaires. L’agence souligne que l’objectif principal qui doit sous-tendre les options de gestion en matière d’hygiène alimentaire est celui de la protection du consommateur à un niveau au moins équivalent à celui actuellement assuré par la réglementation nationale. Si, compte-tenu du contexte européen, cette garantie devait passer par l’adaptation de certains des critères actuels, l’équivalence de ces critères alternatifs en termes de protection du consommateur devrait être démontrée scientifiquement, y compris en prenant en compte les disparités liées aux expositions et aux usages culinaires.

Martin HIRSCH

2
4