

Maisons-Alfort, le 29 octobre 2001

## AVIS

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la classification des aliments selon le danger représenté par *Listeria monocytogenes*

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

Saisine n° 2000-SA-0094

Suite à ses recommandations en date du 14 janvier 2000 concernant le renforcement des critères microbiologiques à l'égard de *Listeria monocytogenes* pour certains produits de charcuterie<sup>1</sup>, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a été saisie, le 7 avril 2000, d'une demande d'avis complémentaire relative à l'évaluation des risques liés à la contamination de ces aliments par *Listeria monocytogenes*, en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques et leurs procédés de fabrication.

Cette demande s'inscrit dans le champ d'une réflexion plus générale menée par l'Afssa sur les risques liés à *Listeria monocytogenes*, et qui a fait l'objet d'un rapport d'actualisation en juillet 2000. Parmi les priorités de recherche et d'évaluation identifiées dans ce rapport, pour améliorer la maîtrise des risques dans ce domaine, deux points ont été particulièrement mis en exergue :

- la définition des critères de classification des aliments en fonction de leur sensibilité à la croissance de *Listeria monocytogenes* (liée aux caractéristiques physico-chimiques de l'aliment, aux traitements thermiques subis en cours de fabrication ou au stade de la consommation, à la durée de conservation...);
- l'établissement d'un guide scientifiquement validé, indiquant les conditions de réalisation de tests permettant d'apprécier la croissance de *Listeria monocytogenes* dans les aliments.

Dans ce contexte, et après consultation du comité d'experts spécialisé « Microbiologie », le 13 juin 2001, l'Afssa rend un avis portant sur :

- une classification générale des aliments selon le danger représenté par *Listeria monocytogenes*,
- une proposition de lignes directrices pour la réalisation de tests de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les aliments, et la constitution des dossiers de présentation des protocoles expérimentaux ; ces lignes directrices pourront constituer un outil :

- pour les instances d'expertise : si les protocoles de tests de croissance élaborés par les professionnels devaient être évalués en vue de valider leur pertinence<sup>2</sup>, les experts pourraient se reporter à ces lignes directrices comme un pré-requis, harmonisé, pour l'ensemble des protocoles ;

- pour les services de contrôle : en cas d'alerte, la connaissance de l'évolution de la population de *Listeria monocytogenes* dans un type d'aliment permettra de savoir si les lots suspects (contaminés par *Listeria monocytogenes* à des concentrations inférieures au seuil retenu par les textes en vigueur) peuvent rester conformes jusqu'à la date limite de consommation. Ces résultats constitueront une aide à la prise de décision quant au retrait éventuel des produits du marché ;

- pour les professionnels : ces tests de croissance constituent un des outils (complété par les tests de vieillissement, les autocontrôles, l'utilisation de la microbiologie prévisionnelle et autres données de la littérature) permettant de s'assurer de la fiabilité des produits au regard du risque lié à *Listeria monocytogenes* jusqu'à la consommation. Les lignes directrices proposées ont vocation à préciser, d'une part le champ d'application des tests de croissance, d'autre part les conditions techniques de leur mise en œuvre.

23, avenue du  
Général de Gaulle  
BP 19, 94701  
Maisons-Alfort cedex  
Tel 01 49 77 13 00  
Fax 01 49 77 90 05  
www.afssa.fr

<sup>1</sup> Produits de charcuterie traités thermiquement puis manipulés avant conditionnement sur le lieu de production et conservés à l'état réfrigéré

<sup>2</sup> cf. note interministérielle du 15 juin 2000 relative au protocole de communication en cas de non conformité à *Listeria monocytogenes*

REPUBLIQUE  
FRANÇAISE

## Préambule

Dans ce document, quelles que soient les catégories des aliments, il est considéré que les bonnes pratiques d'hygiène, de fabrication et de distribution sont respectées par les professionnels et que les conditions d'emploi de l'aliment, quand elles sont mentionnées, sont respectées par le consommateur.

# **1- Classification des aliments selon le danger représenté par *Listeria monocytogenes*.**

## **1.1. Définitions**

Trois catégories d'aliments ont été définies selon le danger représenté par *Listeria monocytogenes*.

### **- “ aliments à risque maîtrisé ”**

Ces aliments sont exempts de *Listeria monocytogenes* au stade d'achat :

- parce qu'ils sont soumis à des mesures de maîtrise microbiologique appropriées, ou
- parce qu'ils ont subi un traitement listéricide, dont l'efficacité a été démontrée pour des niveaux de contamination habituellement détectée avant traitement en fonction de la maîtrise microbiologique des étapes antérieures de la vie du produit (par exemple, traitement thermique de 65°C à cœur pendant 2 min ou traitement équivalent si la température à cœur est supérieure à 65°C, ionisation à 5 kGy).

Ces aliments sont exempts de *Listeria monocytogenes* au stade de la consommation :

- parce qu'ils sont consommés selon des recommandations appropriées portées à la connaissance du consommateur, par exemple par un système d'étiquetage (conditions de cuisson, délai de consommation après ouverture...), ou
- en l'absence de telles recommandations, parce que le mode de consommation habituel comporte une étape listéricide.

### **- “ aliments sûrs ”**

Les caractéristiques de ces aliments ne permettent pas la croissance de *Listeria monocytogenes*.

Ainsi, ces aliments sont considérés comme ne présentant pas de risque :

- en général pour le consommateur, à condition que le niveau de contamination initiale soit conforme au seuil réglementaire ;
- plus particulièrement, pour certaines populations à risque<sup>3</sup> pour lesquelles un seuil pourrait être défini sur la base d'une appréciation des risques, à condition que le niveau de contamination initiale soit inférieur à ce seuil.

### **- “ aliments sensibles ”**

Les caractéristiques de ces aliments permettent la croissance de *Listeria monocytogenes*. S'ils sont contaminés par *Listeria monocytogenes*, ces aliments peuvent présenter un niveau de contamination par ce micro-organisme supérieur au seuil défini comme représentant un risque pour le consommateur, sur la base d'une appréciation des risques.

## **1.2. Principe de classification**

Une procédure de classification des aliments, en fonction du danger représenté par *Listeria monocytogenes*, est présentée sous la forme d'un arbre de décision, tenant compte des paramètres suivants :

- caractéristiques physico-chimiques des aliments (pH,  $a_w$ , état de l'aliment),
- traitements physiques subis par l'aliment au stade de la fabrication et/ou de la consommation,
- possibilités de recontamination de l'aliment.

---

<sup>3</sup> Cf. rapport Afssa de la commission *Listeria*, juillet 2000 ; Bulletin épidémiologique hebdomadaire, n°23, 1995.

Deux exemples d'arbres sont présentés, en fonction de l'étape de la vie de l'aliment : stade « achat » et stade « consommation ». Ces arbres doivent constituer une aide à la mise en œuvre de moyens de maîtrise appropriés à chacune des catégories d'aliment, pour les professionnels responsables des deux étapes de la vie de leurs produits (avant et après distribution), pour les consommateurs, ou le cas échéant pour les pouvoirs publics.

**- Arbre d'évaluation « Achat »**

L'aliment est considéré tel qu'il se présente au moment de l'achat par le consommateur, par exemple : produit avant ouverture de l'emballage (bouteille de lait, conserve, paquet de biscuits, etc.), tranche de viande à la découpe....

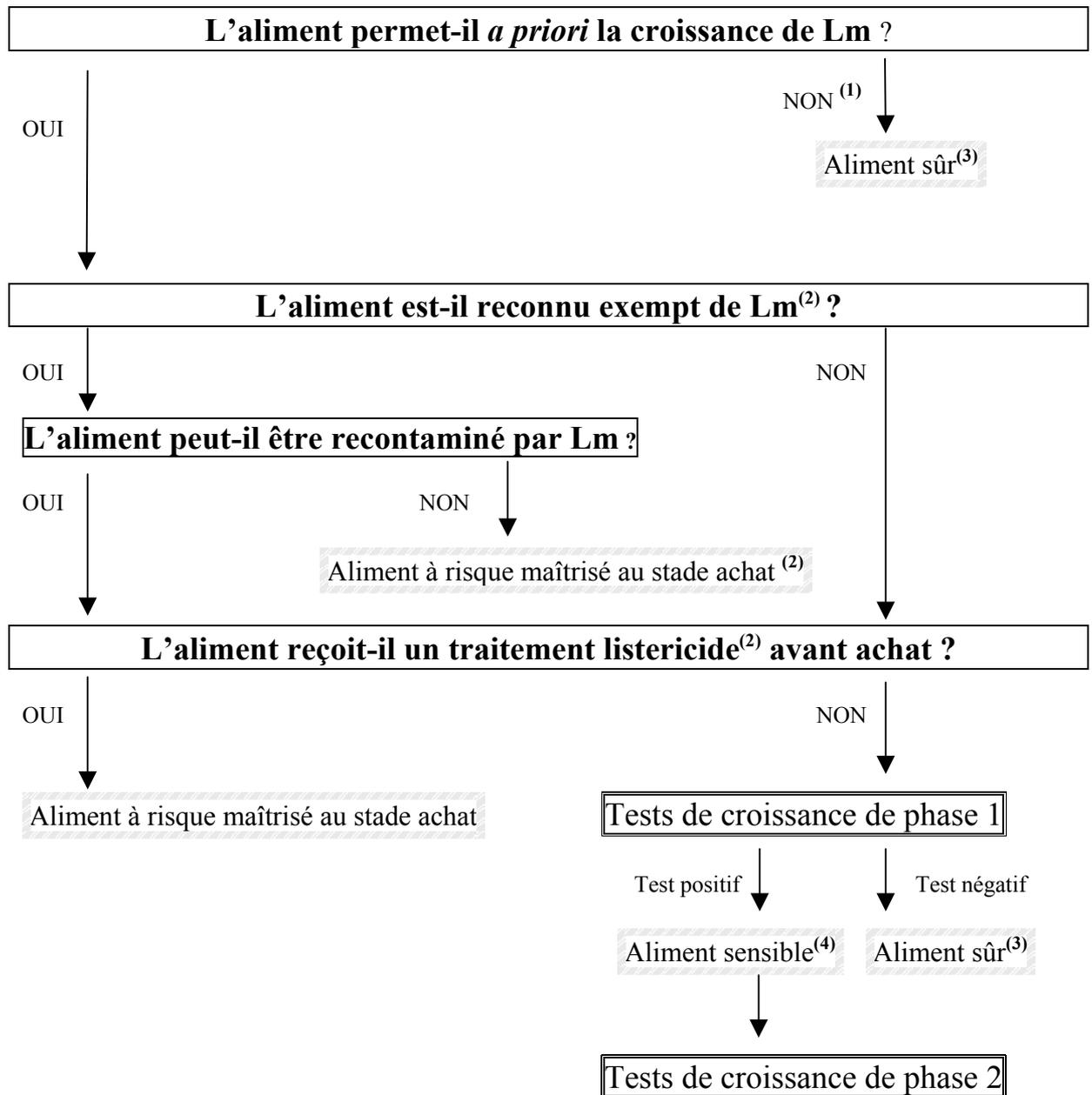
Lors d'une évaluation au niveau « achat », l'application de l'arbre de décision permet de déterminer si des mesures de maîtrise doivent être prises jusqu'à la vente (maîtrise de la température de conservation, définition d'une date limite de consommation (DLC) par exemple). Dans ce cas, il y a lieu de noter que l'étape de l'arbre « tests de croissance de phase 2 » doit prendre en compte les conditions de conservation (temps et température) et les contaminations potentielles, jusqu'à l'étape d'achat par le consommateur.

**- Arbre d'évaluation « Consommation, après achat »**

L'aliment est considéré sous sa forme « après achat », au moment de sa consommation, après conservation éventuelle de plusieurs jours au réfrigérateur, dans les conditions normales de consommation telles que précisées sur l'étiquetage et/ou selon les pratiques d'hygiène de base. Au cours de cette étape, il est présumé que l'aptitude de *Listeria monocytogenes* à croître dans l'aliment est connue des professionnels. De plus, il est connu que l'aliment peut être contaminé à l'une des étapes précédant la consommation (transport, conservation, préparation).

Lors d'une évaluation au niveau « consommation », l'application de l'arbre permet d'évaluer si des mesures doivent être prises entre le moment de l'achat et la consommation (température de conservation, durée de conservation après ouverture, conseils de transport, de préparation, de décongélation, de cuisson...). Dans ce cas, il y a lieu de noter que l'étape « tests de croissance de phase 2 » doit prendre en compte, en plus des conditions précédentes, celles de conservation et d'utilisation de l'aliment par le consommateur.

**Arbre de décision permettant de classer les aliments selon le danger,  
Listeria monocytogenes (Lm) au stade « achat »**



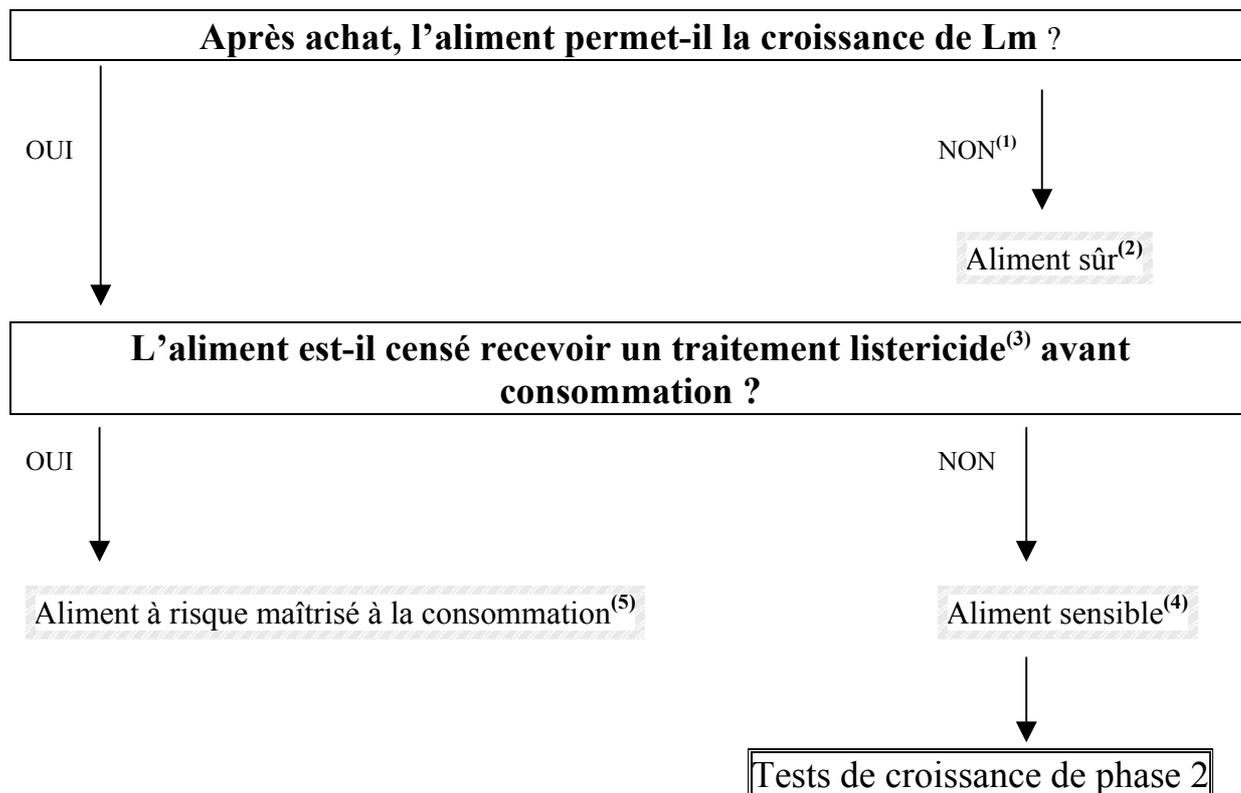
<sup>1</sup> : Ces aliments ont les caractéristiques suivantes :  $a_w < 0,90$  , ou  $pH < 4,2$  (ou  $pH < 4,5$  lorsque l'acidification est obtenue par de l'acide lactique et/ou acétique), ou aliment à l'état congelé ou surgelé.

<sup>2</sup> : Ces aliments sont exempts de Lm, car soumis à des mesures de maîtrise microbiologique appropriées, ou ayant subi un traitement listéricide dont l'efficacité a été démontrée pour des niveaux de contamination habituellement détectée avant traitement, en fonction de la maîtrise microbiologique des étapes antérieures de la vie du produit (par exemple, traitement thermique de 65°C à cœur pendant 2 min ou traitement équivalent si la température à cœur est supérieure à 65°C, ionisation à 5 kGy).

<sup>3</sup> : - En général pour le consommateur, ces aliments ne présentent pas de risque à condition que le niveau de contamination initiale soit conforme au seuil réglementaire.  
- Plus particulièrement, pour certaines populations à risque pour lesquelles un seuil pourrait être défini sur la base d'une appréciation des risques, ces aliments ne présentent pas de risque à condition que le niveau de contamination initiale soit inférieur à ce seuil.

<sup>4</sup> : Ces aliments, s'ils sont contaminés par *Listeria monocytogenes*, peuvent présenter un niveau de contamination par ce micro-organisme supérieur au seuil défini comme représentant un risque pour le consommateur, sur la base d'une appréciation des risques. Pour cette catégorie d'aliment, il s'agira de mettre en place les études pour définir une DLC appropriée, au moyen par exemple des tests de croissance de phase 2.

**Arbre de décision permettant de classer les aliments selon le danger, *Listeria monocytogenes* (Lm) au stade « consommation », après achat**  
(Il est connu qu'après l'étape d'achat, l'aliment peut être contaminé au stade de la consommation.)



<sup>1</sup> : Ces aliments ont les caractéristiques suivantes :  $a_w < 0,90$  , ou  $pH < 4,2$  (ou  $pH < 4,5$  lorsque l'acidification est obtenue par de l'acide lactique et/ou acétique), ou aliment à l'état congelé ou surgelé.

<sup>2</sup> : - En général pour le consommateur, ces aliments ne présentent pas de risque à condition que le niveau de contamination initiale soit conforme au seuil réglementaire.  
- Plus particulièrement, pour certaines populations à risque pour lesquelles un seuil pourrait être défini sur la base d'une appréciation des risques, ces aliments ne présentent pas de risque à condition que le niveau de contamination initiale soit inférieur à ce seuil.

<sup>3</sup> : traitement dont l'efficacité a été démontrée pour des niveaux de contamination habituellement détectée dans les aliments, en fonction de la maîtrise microbiologique des étapes antérieures de la vie du produit (par exemple, traitement thermique de 65°C à cœur pendant 2 min ou traitement équivalent si la température à cœur est supérieure à 65°C, ionisation à 5 kGy).

<sup>4</sup> : Ces aliments, s'ils sont contaminés par *Listeria monocytogenes*, peuvent présenter un niveau de contamination par ce micro-organisme supérieur au seuil défini comme représentant un risque pour le consommateur, sur la base d'une appréciation des risques. Dans ces conditions, des recommandations particulières destinées au public, en terme de durée et de température de conservation et de condition d'utilisation, devraient permettre de garantir la sécurité du consommateur vis-à-vis du risque lié à *Listeria monocytogenes*, par exemple en utilisant les résultats des tests de croissance de phase 2.

<sup>5</sup> : sous réserve d'une préparation conforme à un protocole validé par les professionnels (et porté à la connaissance du consommateur, par exemple par un système d'étiquetage).

### 1.3. Exemples d'application

L'application de ces arbres est détaillée ci-dessous pour quelques exemples d'aliments.

#### 1- Classification du yaourt

Le yaourt est un aliment fermenté par des bactéries lactiques ; son pH est inférieur à 4,5 ; par définition, en France, un yaourt contient au moins 10 millions de ces ferments lactiques vivants jusqu'à sa DLC.

Aux stades d'évaluation « achat » et « consommation », les caractéristiques intrinsèques du yaourt ne permettent pas *a priori* la croissance de *Listeria monocytogenes* : le yaourt peut donc être considéré comme un **aliment « sûr »** au regard de *Listeria monocytogenes*.

#### 2- Classification d'un pâté en conserve

Le pâté en conserve est un aliment reconstitué à base de viande, ayant subi un traitement d'appertisation.

##### Evaluation au stade « achat »

Le pâté en conserve dans son emballage fermé, peut *a priori* permettre la croissance de *Listeria monocytogenes*, mais est reconnu exempt de ce pathogène du fait du traitement thermique subi au cours du processus de fabrication.

Au stade « achat », tant que le conditionnement reste fermé et parfaitement étanche, le pâté en conserve peut être considéré comme un **aliment « à risque maîtrisé »** au regard de *Listeria monocytogenes*.

##### Evaluation au stade « consommation »

Au stade « consommation » après achat, si le pâté permet la croissance de *Listeria monocytogenes*, il sera considéré comme un **aliment « sensible »**, dans la mesure où il est connu d'une part que l'aliment peut être contaminé par le consommateur après ouverture, et d'autre part que cet aliment ne nécessite pas une étape de cuisson pour être consommé. Ce pâté devra faire l'objet de tests de croissance de phase 2 afin de déterminer les recommandations particulières destinées au public (en terme de durée et de température de conservation après ouverture) permettant de garantir la sécurité du consommateur vis-à-vis du risque lié à *Listeria monocytogenes*.

#### 3- Classification d'une soupe fraîche (à conserver sous réfrigération)

La soupe fraîche est constituée d'un mélange d'eau, de produits végétaux et/ou animaux ayant subi un traitement de pasteurisation ; ce traitement thermique, s'il détruit la flore pathogène, ne détruit que partiellement la flore d'altération ce qui impose une conservation à des températures réfrigérées.

##### Evaluation au stade « achat »

La soupe fraîche dans son emballage fermé, peut *a priori* permettre la croissance de *Listeria monocytogenes*, mais est reconnue exempte de ce pathogène du fait du traitement thermique subi au cours du processus de fabrication.

Au stade « achat », tant que le conditionnement reste fermé et parfaitement étanche, et que la soupe est conservée à 4°C, elle sera considérée comme un **aliment « à risque maîtrisé »** au regard de *Listeria monocytogenes*.

##### Evaluation au stade « consommation »

Au stade « consommation » après achat, si la soupe permet la croissance de *Listeria monocytogenes*, elle sera considérée comme un **aliment « sensible »**, dans la mesure où il est connu que l'aliment peut être contaminé par le consommateur après ouverture. Cette soupe devra faire l'objet de tests de croissance de phase 2 afin de déterminer les recommandations particulières destinées au public (en terme de durée et de température de conservation après ouverture et de conditions d'utilisation) permettant de garantir la sécurité du consommateur vis-à-vis du risque lié à *Listeria monocytogenes*.

Remarque : si la soupe est consommée réchauffée, selon des conditions conformes à un protocole listéricide validé par des professionnels (et porté à la connaissance du consommateur, par exemple par un système d'étiquetage), la soupe sera considérée, au stade « consommation », comme un **aliment « à risque maîtrisé »** au regard de *Listeria monocytogenes*.

## 2- Tests de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les aliments

Les tests de croissance (« challenge tests ») permettent d'étudier l'évolution d'une population de micro-organismes ajoutés dans un aliment, comportant le dénombrement de la population initiale ajoutée (les tests de croissance sont utilisés plus particulièrement lorsque l'on étudie des micro-organismes pathogènes qui ne sont pas détectables de façon habituelle dans l'aliment)<sup>4</sup>.

Ces tests pourront être réalisés soit par les industriels sur des aliments particuliers, soit par des organismes interprofessionnels sur des "aliments types" pris comme références, qui prendront en compte la variabilité des compositions physico-chimiques et des modes de production et de conservation des aliments.

Des lignes directrices pour l'élaboration de deux types de tests de croissance sont présentées ci-dessous.

### 2.1. Tests de croissance phase 1

Ces tests s'appliquent aux aliments pour lesquels on ne sait pas prévoir avec certitude l'aptitude de la croissance de *Listeria monocytogenes* (développement de nouveaux produits, changement de la formulation d'un aliment). Ils correspondent à une étude destinée à connaître la capacité de croissance d'un micro-organisme (généralement identifié comme un danger) dans un aliment inoculé artificiellement avec une culture connue de ce micro-organisme.

#### **- Choix des souches**

Deux souches seront utilisées :

- une souche de terrain, identifiée de façon adéquate (souche isolée de l'aliment ou, en l'absence d'une telle souche, la plus proche possible de celles potentiellement présentes dans le produit ou la gamme de produit de même nature),
- la souche de référence du sérovar 4b, CIP<sup>5</sup> 78.38.

Les deux souches seront étudiées séparément.

#### **- Préparation de l'inoculum**

La culture préparatoire des souches s'effectuera à 30°C dans le milieu le plus approprié à leur multiplication, jusqu'à l'obtention de souches en phase post-exponentielle de croissance.

L'inoculum devra permettre d'obtenir 1000 UFC/g de produit fini, avec une tolérance de  $\pm 500$  UFC/g. Cette concentration, relativement élevée, permettra un dénombrement avec une précision suffisante.

#### **- Inoculation de l'aliment**

L'inoculation sera réalisée dans les conditions les plus proches des conditions naturelles de contamination, en modifiant le moins possible la structure, la composition, les propriétés physico-chimiques, le conditionnement de l'aliment, et en prenant garde à l'homogénéité de l'inoculum par rapport aux zones prélevées pour les analyses.

#### **- Conditions de conservation de la denrée alimentaire inoculée**

Les échantillons seront maintenus à 30°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) pendant toute la durée du test et à 15°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) si le test à 30°C est négatif.

#### **- Durée d'incubation de l'aliment et nombre de points d'analyse**

Les prélèvements seront réalisés à J0, J1, J2, J5 puis tous les 5 jours jusqu'à l'observation d'une croissance de *Listeria monocytogenes*, ou jusqu'à ce que les aliments présentent des altérations organoleptiques.

#### **- Méthode**

La méthode d'analyse sera une méthode normalisée (normes EN ISO 11290-2, AFNOR XPV08-062) permettant le dénombrement de *Listeria monocytogenes*.

#### **- Interprétation du test de croissance de phase 1**

<sup>4</sup> Projet de révision de la Norme XP V 01-002, Glossaire hygiène des aliments.

<sup>5</sup> Collection de l'institut Pasteur

Un test de croissance de phase 1 est positif lorsqu'une croissance de *Listeria monocytogenes* peut être observée avant la fin de la durée d'incubation déterminée selon les recommandations ci-dessus. En tenant compte du coefficient de variation des méthodes de dénombrement, une croissance est considérée positive, si un doublement ou plus de la population de *Listeria monocytogenes* inoculée est constaté.

## **2.2. Tests de croissance phase 2**

Ces tests s'appliquent aux aliments qui ont fait l'objet d'un résultat positif au test de croissance phase 1 ou aux aliments pour lesquels on sait (données épidémiologiques, travaux antérieurs, références bibliographiques, etc.) que *Listeria monocytogenes* peut s'y multiplier. Ils correspondent à une expérience destinée à évaluer l'accroissement de la population d'un micro-organisme (généralement identifié comme un danger) dans une denrée alimentaire inoculée artificiellement avec une culture connue de ce micro-organisme, et analysée dans les conditions raisonnablement prévisibles de son utilisation.

### **- Procédé de fabrication**

Le dossier comportera le descriptif détaillé du procédé de fabrication et mettra en exergue tous les points justifiant le choix des paramètres du protocole présenté (par exemple, une attention sera portée sur les étapes critiques du procédé où la contamination de l'aliment par *Listeria monocytogenes* est possible).

### **- Denrée alimentaire**

Le dossier présentera :

- les caractéristiques physico-chimiques de la denrée alimentaire, sa structure, les facteurs *a priori* importants pour le comportement de *Listeria monocytogenes* et qu'il faudra prendre en compte dans le test (conditionnement par exemple) ;
- la nature des flores annexes habituellement rencontrées ;
- les habitudes raisonnablement prévisibles de distribution et de consommation.

### **- Historique de la contamination de la denrée alimentaire par *Listeria monocytogenes***

Ce point pourra être illustré par des données bibliographiques (cas groupés, données résultant de plans de surveillance ou de contrôle, de travaux scientifiques, d'organisations interprofessionnelles). Un bilan des autocontrôles de l'établissement ou de la filière devra être présenté.

### **- Choix des souches**

Au moins 2 souches seront choisies dont :

- une souche de terrain, identifiée de façon adéquate (souche isolée de l'aliment ou, en l'absence d'une telle souche, la plus proche possible de celles potentiellement présentes dans le produit ou la gamme de produit de même nature),
- la souche de référence du sérovar 4b, CIP<sup>6</sup> 78.38.

Les souches seront étudiées séparément.

### **- Préparation de l'inoculum**

La préculture sera réalisée à une température la plus proche possible de la première température de conservation de l'aliment, tout en permettant la croissance en un temps raisonnable permettant la réalisation des essais (par exemple, pour les denrées réfrigérées à 4°C, ne pas dépasser 14°C pour la préculture). Les souches seront utilisées en phase post-exponentielle de croissance.

L'inoculum devra permettre d'obtenir 1000 UFC/g de produit fini, avec une tolérance de  $\pm 500$  UFC/g. Cette concentration, relativement élevée permettra un dénombrement avec une précision suffisante.

---

<sup>6</sup> Collection de l'institut Pasteur

#### - Inoculation de l'aliment

L'inoculation devra être réalisée en simulant le mieux possible les conditions naturelles de contamination. Si nécessaire, une répétition du test pourrait être envisagée, en ensemençant l'aliment à différentes étapes du procédé de fabrication. L'incidence des recontaminations éventuelles, après fabrication, devrait être appréciée.

L'inoculation sera réalisée en modifiant le moins possible la structure, la composition, les propriétés physico-chimiques, le conditionnement de l'aliment, et en prenant garde à l'homogénéité de l'inoculum par rapport aux zones prélevées pour les analyses.

#### - Conditions de conservation de la denrée alimentaire inoculée

Les conditions de conservation de l'aliment (temps/température) devront tenir compte des obligations réglementaires et des conditions raisonnablement prévisibles, selon les modes de distribution, de transport, de stockage, jusqu'à sa consommation finale.

La durée et la température de chaque étape de la vie de l'aliment (en prenant en compte des ruptures de la chaîne du froid, éventuellement multiples) devront être justifiées et choisies en envisageant les conditions réalistes les plus favorables à la croissance bactérienne.

#### - Nombre d'analyses par lot de produit

L'objectif est d'évaluer l'accroissement de la population de *Listeria monocytogenes* au cours de la conservation jusqu'au stade de la consommation.

Dans ces conditions, les analyses en début et en fin de conservation seront privilégiées et en outre on regardera plus particulièrement les points où la vitesse de croissance est susceptible d'être fortement modifiée (par exemple, étapes précédant et suivant la vente au consommateur).

Trois répétitions minimum par point d'analyse devront être réalisées.

#### - Nombre de lots

Le nombre de lots sera d'autant plus grand que les lots de fabrication présentent une hétérogénéité entre eux. Un minimum de 3 lots sera analysé.

#### - Méthode

La méthode d'analyse sera une méthode normalisée (normes EN ISO 11290-2, AFNOR XPV08-062) permettant le dénombrement de *Listeria monocytogenes*.

#### - Présentation des résultats

Le scénario thermique utilisé pour la réalisation du test de croissance devra être fourni sous forme graphique et/ou de tableau. Pour chaque lot, toutes les mesures obtenues à chaque point d'analyse devront être fournies, éventuellement sous forme graphique, ainsi que les valeurs moyennes ( $y$ ) pour chaque point d'analyse (cf. schéma ci-dessous). Toutes les représentations graphiques et tous les calculs seront réalisés sur les données en logarithme à base 10 ( $\log_{10}(\text{UFC/g})$ ). Entre deux points d'analyse successifs, le taux d'accroissement moyen devra être calculé pour chaque lot (différence entre les moyennes aux deux points d'analyse rapportée au temps écoulé entre ces deux points, c'est-à-dire  $\Delta y/\Delta t$  avec les notations du schéma ci-dessous). Les valeurs moyennes des taux d'accroissement sur l'ensemble des lots devront aussi être reportées (cf. tableau ci-dessous).

Schéma de représentation graphique des résultats obtenus sur un lot pour un exemple à trois points d'analyse :

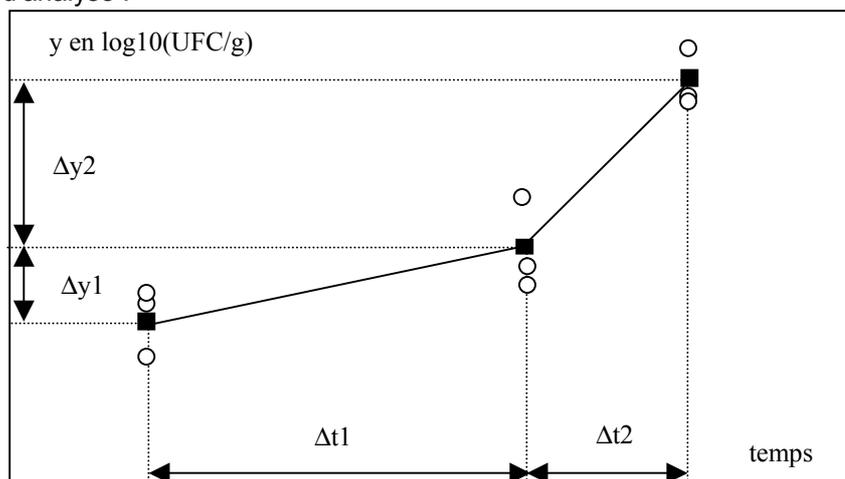


Tableau de présentation des résultats obtenus sur l'ensemble des lots pour un exemple à trois points d'analyse :

	Lot 1	Lot 2	Lot 3	...	moyenne
$\Delta y_1/\Delta t_1$	...	...	...	...	...
$\Delta y_2/\Delta t_2$	...	...	...	...	...

L'intégralité des résultats obtenus devra être accessible. L'interprétation des résultats devra être confiée à un microbiologiste qualifié.

#### - Utilisation des résultats du test de croissance de phase 2

Lorsque la concentration de *Listeria monocytogenes* dans l'aliment dépasse le seuil réglementaire avant la fin de la DLC, dans les conditions d'incubation choisie pour le test de croissance de phase 2 selon les recommandations ci-dessus, l'aliment est considéré comme présentant un risque de santé publique.

Note 1 : Ces tests devront être réalisés par du personnel qualifié et expérimenté selon des procédures d'accréditation, soit par les professionnels eux-mêmes, soit par des laboratoires prestataires.

Note 2 : Les résultats obtenus au cours d'études antérieures pourront être utilisés, pourvu qu'ils répondent aux lignes directrices décrites ci-dessous.

Note 3 : Les recommandations mentionnées dans ces lignes directrices pourront être ajustées, selon l'expérience à venir des protocoles à expertiser.

\*\*\*\*\*

Pour conclure, l'ensemble de ces réflexions apporte des outils, scientifiquement valides, qui contribuent à améliorer la protection du consommateur au regard du risque lié à la contamination des aliments par *Listeria monocytogenes*, selon une démarche à la fois préventive et rétrospective en cas d'alerte (cf. annexe 2).

La classification des aliments selon les étapes de leur vie (de la production à la consommation), ainsi que la mise en œuvre de tests de croissance, permettent de distinguer les aliments intrinsèquement sûrs pour le consommateur des aliments pour lesquels des mesures de maîtrise appropriées devraient être apportées. Pour cette dernière catégorie, une sécurisation accrue pourrait conduire d'une part à revoir les conditions d'obtention et la définition des dates limites de consommation d'un point de vue sanitaire, d'autre part à émettre des recommandations supplémentaires, à destination du consommateur (par exemple par le biais de l'étiquetage), relatives aux conditions de conservation ou d'utilisation jusqu'à l'étape de la consommation.

Les résultats des tests de croissance, combinés avec ceux d'autres types d'études, tels que les tests de vieillissement et les autocontrôles (qui donnent plus particulièrement des indications sur la nature et la fréquence de la contamination des aliments), et ceux obtenus à partir des outils de la microbiologie prévisionnelle (permettant d'élargir l'approche expérimentale de la croissance du pathogène dans l'aliment) devraient contribuer à s'assurer de l'adéquation des différents moyens de maîtrise du risque lié à *Listeria monocytogenes* à chaque situation.

En outre, lors de la détection d'une contamination de denrées alimentaires par *Listeria monocytogenes* à un niveau inférieur au seuil réglementaire, et en l'absence même de cas humain identifié, un dispositif permettant la comparaison des souches isolées des aliments avec des souches épidémiques connues apporterait des informations complémentaires importantes pour l'appréciation des risques.

Enfin, il convient de souligner que la démarche proposée dans cet avis, dans le cadre spécifique de la saisine relative à *Listeria monocytogenes*, pourrait être extrapolée à d'autres micro-organismes considérés comme dangereux pour la santé publique.

**Martin HIRSCH**

## Annexe 1 : Glossaire

### - Aliments à risque maîtrisé (proposition de l'Afssa)

Ces aliments sont exempts de *Listeria monocytogenes* au stade d'achat :

- parce qu'ils sont soumis à des mesures de maîtrise microbiologique appropriées, ou
- parce qu'ils ont subi un traitement listéricide, dont l'efficacité a été démontrée pour des niveaux de contamination habituellement détectée avant traitement, en fonction de la maîtrise microbiologique des étapes antérieures de la vie du produit (par exemple, traitement thermique de 65°C à cœur pendant 2 min ou traitement équivalent si la température est supérieure à 65°C, ionisation à 5 kGy).

Ces aliments sont exempts de *Listeria monocytogenes* au stade de la consommation :

- parce qu'ils sont consommés selon des recommandations appropriées portées à la connaissance du consommateur, par exemple par un système d'étiquetage (conditions de cuisson, délai de consommation après ouverture...), ou
- en l'absence de telles recommandations, parce que le mode de consommation habituel comporte une étape listéricide.

### - Aliments sûrs (proposition de l'Afssa)

Les caractéristiques de ces aliments ne permettent pas la croissance de *Listeria monocytogenes*.

Ainsi, ces aliments sont considérés comme ne présentant pas de risque :

- en général pour le consommateur, à condition que le niveau de contamination initiale soit conforme au seuil réglementaire ;
- plus particulièrement, pour certaines populations à risque<sup>7</sup> pour lesquelles un seuil pourrait être défini sur la base d'une appréciation des risques, à condition que le niveau de contamination initiale soit inférieur à ce seuil.

### - Aliments sensibles (proposition de l'Afssa)

Les caractéristiques de ces aliments permettent la croissance de *Listeria monocytogenes*. S'ils sont contaminés par *Listeria monocytogenes*, ces aliments peuvent présenter un niveau de contamination par ce micro-organisme supérieur au seuil défini comme représentant un risque pour le consommateur, sur la base d'une appréciation des risques.

### - Danger (Norme AFNOR XP V 01-002)

Agent biologique, chimique ou physique présent dans un aliment ou état de cet aliment, pouvant entraîner un effet néfaste sur la santé.

### - Microbiologie prévisionnelle (d'après Flandrois JP, *et al.* Bases méthodologiques en microbiologie prédictive. 3<sup>ème</sup> conférence internationale de l'ASEPT. Laval, 1-2 juin 1994)

Discipline visant à prévoir le niveau de présence ou d'activité des micro-organismes pathogènes ou d'altération à un instant donné dans l'aliment, en fonction de modèles mathématiques décrivant la croissance et l'inactivation microbiennes.

### - Risque (Norme AFNOR XP V 01-002)

Fonction de probabilité d'un effet néfaste sur la santé et de la gravité de cet effet résultant d'un ou de plusieurs dangers dans un aliment.

---

<sup>7</sup> Cf. rapport Afssa de la commission *Listeria*, juillet 2000 ; Bulletin épidémiologique hebdomadaire, n°23, 1995.

- Test de croissance (« challenge test ») (Norme XP V 01-003 en cours de révision)  
Etude de l'évolution d'une population de micro-organismes ajoutés dans un aliment, comportant le dénombrement de la population initiale ajoutée (Note : les tests de croissance sont utilisés plus particulièrement lorsque l'on étudie des micro-organismes pathogènes qui ne sont pas détectables de façon habituelle dans l'aliment).
  
- Test de croissance (proposition de l'Afssa)  
Expérience destinée à connaître la capacité de croissance d'un micro-organisme (test de croissance de phase 1) ou à mesurer l'évolution quantitative d'une population microbienne (test de croissance de phase 2), dans différents échantillons d'une même denrée alimentaire, inoculés artificiellement avec une culture connue de micro-organismes.
  
- Test de vieillissement microbiologique (projet de révision de la norme XP V 01-003)  
Etude de l'évolution dans un aliment, de populations de micro-organismes qui y sont habituellement présents, de façon détectable ou non.
  
- Traitement listéricide (proposition de l'Afssa)  
Traitement dont l'efficacité a été démontrée pour des niveaux de contamination habituellement détectée avant traitement, en fonction de la maîtrise microbiologique, des étapes antérieures de la vie du produit (par exemple, traitement thermique de 65°C à cœur pendant 2 min ou traitement équivalent si la température à cœur est supérieure à 65°C, ionisation à 5 kGy). Les aliments ayant subi un traitement listéricide sont considérés exempts, dans une certaine limite (à définir), de *Listeria monocytogenes*.

## **Annexe 2 : contexte et objectifs des tests de vieillissement et des tests de croissance**

### Protocole de validation des DLC/DLUO (tests de vieillissement)

L'article R 112-22 du Code de la consommation<sup>8</sup> impose que le consommateur soit informé de la date jusqu'à laquelle les qualités d'un aliment sont garanties. Selon la gravité des dangers liés à l'évolution des aliments, notamment microbiologiques, cette information est soit une Date Limite de Consommation (DLC) soit une Date Limite d'Utilisation Optimale (DLUO). La détermination de ces dates relève de la responsabilité des professionnels et doit se fonder sur des données en situation réelle apportant les garanties suffisantes quant à l'innocuité des denrées consommées. A ce titre des protocoles de validation des DLC/DLUO ont été élaborés en vue d'apporter aux professionnels l'assistance technique nécessaire à la détermination des dates apposées sur l'emballage des aliments qu'ils commercialisent, avec pour effet une certaine harmonisation dans les paramètres retenus (temps et températures relatifs aux conditions entourant les opérations de fabrication, puis de stockage jusqu'à l'utilisation finale par le consommateur) et dans les modalités de réalisation des analyses<sup>9</sup>.

Les protocoles de validation des DLC sont appliqués sur site et mis en œuvre en routine par les professionnels ; ils doivent être intégrés dans le système d'analyse et maîtrise des dangers des établissements agroalimentaires. Les données qui en sont issues leur permettent de déterminer les DLC apposées sur leurs aliments et d'en vérifier la validité par des analyses régulières et continues dans le temps (s'inscrivant dans le plan d'autocontrôles).

En d'autres termes, l'apposition d'une date sur un aliment n'est pas de fait extrapolable à un autre atelier fabriquant le même type d'aliment, dans la mesure où les modalités de sélection des matières premières et de fonctionnement, variant d'un atelier à un autre, interfèrent de manière importante dans la durée de vie des aliments.

### Protocole d'évaluation de la croissance de micro-organismes pathogènes (tests de croissance)

A côté de ce contexte de fonctionnement normal et habituel d'une entreprise agroalimentaire, un autre type de situation peut être rencontré correspondant à la découverte de la contamination d'un ou plusieurs lots de denrées alimentaires par des micro-organismes pathogènes. Celle-ci donne lieu à une alerte sanitaire dont la gestion doit en premier lieu permettre d'éviter la consommation de denrées dont le taux de contamination dépasse le seuil limite pour la santé publique. Dans ce cas la présence du micro-organisme dans la denrée est avérée et le taux de contamination connu (celui donné par l'analyse qui a déclenché l'alerte). Il s'agit alors, dans cette situation précise, d'évaluer le délai minimum nécessaire au micro-organisme en question pour dépasser le critère d'acceptabilité défini par les textes réglementaires, et d'en déduire si ce seuil est susceptible d'être franchi avant la date (DLC ou DLUO) apposée sur l'aliment.

A ce titre il est nécessaire pour les agents de contrôle de pouvoir apprécier la pertinence des études réalisées par les professionnels et asseoir leur décision éventuelle de demande de retrait de la consommation sur des données fiables obtenues à partir de tests de croissance<sup>10</sup>. Cette exigence se fait d'autant plus critique si la décision est prise de ne pas retirer la denrée de la consommation, sur la foi de données recueillies tendant à montrer que le seuil retenu ne sera pas franchi avant la DLC. Il est justifié, dans ce contexte, de se placer dans une situation la plus favorable possible au consommateur et donc relativement stricte par rapport à l'aliment.

<sup>8</sup> Décret du 7 décembre 1984, article 17 codifié.

<sup>9</sup> Norme XP V 01-003 (décembre 1998) : Lignes directrices pour l'élaboration d'un protocole de validation de la durée de vie microbiologique.

<sup>10</sup> C'est bien dans ce dernier contexte d'alerte sanitaire que s'inscrit, dans le cadre des contaminations par *Listeria monocytogenes*, le terme « Etude de vieillissement » visé par la NS DGAL du 12 mai 1998 (gestion des non-conformités) et la lettre-circulaire du 15 juin 1999 (protocole de communication) et qu'il convient de traduire par « Test de croissance ».