

Laval le 1^{er} mars 2002

Il m'est apparu utile au débat, initié lors de la présentation le 17 janvier 2002 de l'Avis de l'AFSSA sur la classification des aliments selon le danger représenté par *Listeria monocytogenes*, de présenter, ci-après, les réponses reçues par l'AFSSA suite aux remarques présentées par ASEPT (voir <http://www.asept.fr/Lm3.htm>).

Bien entendu, le débat n'est pas clos.

Sincères salutations

Albert AMGAR



afssa
AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

N. Réf. :

V. Réf. :

27 FEV. 2002

M. Albert AMGAR
Gérant Directeur de l'ASEPT
Rue des docteurs Calmette et Guérin
BP 2047
53020 Laval

Maisons-Alfort, le 25 FEV. 2002

Objet : Classification des aliments selon le danger représenté par *Listeria monocytogenes*

Monsieur,

Par votre courrier du 28 janvier 2002, j'ai pris connaissance de vos différentes observations quant à la classification des aliments selon la démarche proposée dans l'avis de l'Afssa.

J'ai transmis votre courrier aux scientifiques concernés pour qu'ils puissent vous éclairer sur ces différents points. Vous trouverez dans le document ci-joint la réponse aux remarques et questions que vous nous avez adressées.

Je vous remercie de l'intérêt que vous portez aux travaux de l'Agence et vous prie d'agréer, Monsieur, l'expression de mes sincères salutations.

Martin Hirsch

23, avenue du
Général de Gaulle
BP 19, 94701
Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 50
Fax 01 49 77 90 05
www.afssa.fr

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

REPONSES AUX REMARQUES DE L'ASEPT SUR L'AVIS DE L'AFSSA « CLASSIFICATION DES ALIMENTS SELON LE DANGER REPRESENTE PAR LISTERIA MONOCYTOGENES »

En ce qui concerne les remarques préliminaires de votre courrier :

- Le projet de texte du Codex alimentarius, préparé par l'Allemagne en collaboration avec l'Autriche, le Danemark, la France, le Japon, la Norvège, le Royaume-Uni, la Commission européenne et la Commission internationale en spécifications microbiologiques pour les aliments, relatif aux directives pour la lutte contre *Listeria monocytogenes* dans les aliments, a pour objectif de proposer des critères microbiologiques susceptibles de prévenir les d'obstacles au commerce, selon l'accord OMC/SPS. Cette réflexion qui ressort du domaine de la gestion des aliments doit être dissociée de la réflexion menée par l'Afssa qui reste du domaine de l'appréciation des risques. Cependant, il est à noter que les étapes de l'arbre de décision proposé par l'Afssa, permettant de classer les aliments selon le danger au stade « achat », sont cohérentes avec celles de l'arbre propose par le Codex concernant l'application de plans d'échantillonnage pour les aliments faisant l'objet d'un commerce international.
L'avis de l'Afssa n'a pas fait référence explicitement au texte du Codex qui fait aujourd'hui toujours l'objet de discussions au niveau international et ayant vocation à être modifié.
- La référence au système HACCP aurait pu être indiquée dans le préambule. A cet égard, le rappel sur le respect des bonnes pratiques d'hygiène de fabrication et de distribution a été jugé suffisant. En outre, la démarche HACCP mise en œuvre au niveau de chaque entreprise, n'apporte pas d'éléments utiles pour mener une réflexion générale sur la classification des aliments ni sur les lignes directrices pour la réalisation des tests de croissance.
- Les définitions de l'Afnor sont tirées de la norme XP V 01-002 qui reprend les définitions du comité du Codex pour l'hygiène des aliments. Ce sont donc bien les définitions du Codex qui ont été citées dans l'avis de l'Afssa.
- L'avis de l'Afssa a été publié avant l'élaboration de critères microbiologiques, qui font actuellement l'objet d'une harmonisation au niveau européen. Le travail de l'Afssa sur la classification des aliments est un des éléments d'appréciation des risques à considérer par les gestionnaires pour la définition de tels critères. En ce qui concerne les recommandations de la Commission du 18 avril 2001 relatives au programme de contrôle officiel des denrées alimentaires, ce document n'apporte aucune information pertinente pour la réflexion de l'Afssa sur la classification des aliments et les lignes directrices pour les tests de croissance.
- Bien que les modalités d'échantillonnage constituent un élément important dans la connaissance de la contamination des produits, ce point scientifique ne constituait pas un objectif pour l'expertise de l'Agence. Un minimum de précisions a toutefois été apporté dans l'avis de l'Afssa pour la réalisation des tests de croissance (nombre minimal d'analyses par lot de produit, nombre minimal de répétitions, nombre minimal de lots). Ces recommandations, dépendent des caractéristiques de chaque procédé de fabrication, et doivent être adaptées au cas par cas.

En ce qui concerne le contenu de l'avis :

- La classification des produits de charcuterie en "aliments sensibles", présentée lors de la réunion du 17 janvier 2002 dans le document pédagogique destiné aux consommateurs, n'avait pas vocation de rester en l'état mais à être précisé et complété au fur et à mesure de l'avancement de la classification. C'est ainsi qu'il sera possible, pour chaque type de charcuterie de déterminer objectivement dans quelle catégorie le classer. Une réunion entre des représentants de l'Afssa et les professionnels sur les questions spécifiques des produits de

charcuterie est envisagée pour voir comment les arbres décisionnels peuvent être utilement suivis.

Pour ce qui concerne l'exemple du pâté en conserve, le traitement thermique subi dans son emballage terminal est clairement mentionné puisqu'il est indiqué que ce pâté subit un traitement d'appertisation¹. Par ailleurs, des informations de conservation après ouverture portées à la connaissance du consommateur sont recommandées par l'Afssa; lesquelles pourront être fondées sur les résultats des tests de croissance de phase 2, permettant d'évaluer l'accroissement de la population d'un contaminant dans un aliment contaminé. Ceci n'exclut pas d'encourager l'éducation du consommateur pour assurer sa sécurité.

- Les arbres de décisions permettent de classer les aliments surgelés en " aliments sûrs " tant qu'ils restent à l'état surgelé. Après achat, au stade de la consommation, ces aliments, s'ils sont décongelés, ne répondent plus aux caractéristiques physico-chimiques définissant les " aliments sûrs ". A ce stade, ils peuvent être considérés comme des " aliments à risque maîtrisé ", s'ils sont destinés à être cuits, des " aliments sensibles " ou " sûrs " selon les résultats des tests de croissance de phase 1. De même, comme cela est expliqué dans l'avis, le pâté en conserve est un " aliment à risque maîtrisé " dans son emballage fermé et peut être considéré comme un " aliment sensible " après ouverture (dans le cas d'un test de croissance de phase 1 positif).

Il est exact que, à partir d'inocula très faibles (de l'ordre de 1 à quelques cellule(s) par échantillon), de nombreuses études récentes permettent de penser que le temps de latence pourrait être très variable et éventuellement plus long qu'à partir d'inocula forts et que la probabilité de croissance pourrait être moindre, ce surtout dans des conditions défavorables à la croissance (Baranyi & Pin, 1999; Pascual *et al.*, 2001; Robinson *et al.*, 2001; Metris *et al.*, 2002). Cette influence de la taille de l'inoculum pourrait être due (i) à des effets de coopération ou d'auto inhibition entre cellules en fonction de leur densité (de type quorum sensing) et/ou plus vraisemblablement (ii) à des variations statistiques / stochastiques (impact plus fort à faibles concentrations qu'à fortes concentrations de la variabilité inter-cellules) (Robinson *et al.*, 2001).

Néanmoins, les travaux évoqués ci-dessus sont de l'ordre de la recherche fondamentale. Par ailleurs, ces travaux ne reposent que sur des expériences en milieux de culture liquides, souvent associé à l'estimation d'un temps de détection par photométrie : il ne s'agit pas de suivi classique de croissance par dénombrement sur boîtes de Petri. Or, en pratique, il est impossible dans l'état actuel des outils disponibles de faire des tests de croissance à partir d'inocula aussi faibles, d'une part parce qu'un ensemencement homogène de ces niveaux de population dans une matrice solide s'avérerait hasardeux et d'autre part parce qu'il serait ensuite impossible de dénombrer ces populations par les techniques analytiques actuelles. Par conséquent; on ne peut que souligner ici l'importance de ces travaux théoriques afin qu'ils puissent être dans un futur proche appliqués en pratique. Il convient d'admettre qu'ils ne sont pas encore opérationnels en routine à ce jour.

En revanche, il n'a à notre connaissance jamais été établi avec certitude qu'il y ait, dans conditions des tests de croissance classiques, des différences significatives entre inocula faibles et dénombrables mais avec une forte incertitude associée (10 à 100 bactéries par 9 ou ml) et inocula légèrement plus élevés et plus précisément dénombrables (de l'ordre de 1 000 bactéries par g ou ml). Ainsi, les travaux de Gay *et al.* (1996), Augustin *et al.* (2000) montrent dans quelques cas une tendance vers un temps de latence inversement proportionnel à la taille de l'inoculum mais avec des différences très rarement significatives. Ces différences peuvent certes exister et pourraient être dues aux effets cités ci-dessus ou encore à une différence de compétitivité de *Listeria monocytogenes* par rapport à la flore naturelle du produit, s'il y a lieu.

Toutefois, notre choix a été de considérer qu'il était préférable de se placer dans des conditions optimales pour l'analyse, au détriment de la prise en compte de ces effets éventuels.

S'il s'agit certes d'un scénario expérimental pessimiste fondé sur un inoculum de 1000 bactéries/g, l'absence de différence observée entre les dénombrements initial et final de *Listeria monocytogenes* conférerait un niveau de confiance d'autant plus important à ce résultat.

En revanche, dans un scénario initial d'inoculum faible

¹ Procédé de conservation de produits alimentaires par stérilisation sous l'action de la chaleur, dans un récipient hermétiquement clos (cf. dictionnaire de l'Académie française).

- * un dénombrement final supérieur à un résultat initial n'aurait pas permis d'affirmer avec certitude qu'il y avait réellement eu croissance (cette différence pouvant être simplement due à l'hétérogénéité d'ensemencement et aux incertitudes du dénombrement);
- * pour les mêmes raisons un dénombrement final inférieur ou égal à un résultat initial n'aurait pas permis d'affirmer que la croissance de *Listeria monocytogenes* dans cette denrée était effectivement impossible.

- L'avis recommande d'effectuer les tests avec une souche de terrain pour tenir compte de la variabilité écologique observée en pratique. Le choix d'une souche de collection est justifié par la nécessité de disposer d'une référence pour l'ensemble des tests qui seront réalisés.

- Le choix de travailler sur des souches inoculées artificiellement au stade post-exponentiel de croissance est fondé sur le fait que *Listeria monocytogenes* présente une stabilité métabolique assurant une homogénéité des inocula utilisés.

Par ailleurs, s'il s'agit là de condition de croissance la plus favorable à *Listeria monocytogenes*, ce scénario du pire pour la sécurité des aliments contribue à renforcer le niveau de sécurisation pour le consommateur.

- Un des objectifs des tests de croissance de phase 2 est de rassembler des données analytiques permettant d'apprécier l'accroissement d'une population de micro-organisme dans un aliment contaminé. Ces tests se font à partir d'un inoculum artificiel élevé de 1000 CFU/g. Les courbes obtenues constitueront un référentiel à partir desquelles, une extrapolation pourra être faite pour des contaminations plus faibles. Ainsi, comme cela est expliqué en annexe 2 de l'avis, ces données représentent des outils permettant d'évaluer le délai minimum nécessaire au micro-organisme pour dépasser le critère d'acceptabilité dans un aliment contaminé, notamment en cas d'alerte sanitaire (contamination d'un produit mis sur le marché inférieure au critère réglementaire).

- La réalisation pratique des tests de croissance (définition des produits type, appréciation de la diversité des caractères physico-chimiques des aliments...) sera précisée dans une note de service de la DGAL relative à la durée de vie des aliments, prévue pour l'été 2002. Ces réflexions pourront être menées ultérieurement avec l'appui des centres techniques de chaque profession.

Références

- Augustin *et al.* (2000). *Appl. Environ. Microbiol.* 66:1706-1710
 Baranyi & Pin (1999). *Appl. Environ. Microbiol.* 65:732-736
 Gay *et al.* (1996). *J. Appl. Bacteriol.* 81:433-438
 Metris *et al.* (2002). 7èmes journées européennes Agro-industrie et méthodes statistiques, Lille.
 Pascual *et al.* (2001). *Letters in applied microbiology.* 33 357-361
 Robinson *et al.* (2001). *Int. J. Food Microbiol.* 70 163-173