

AVIS 08-2020

Objet :

Potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages fermiers belges

(SciCom 2019/21)

Avis approuvé par le Comité scientifique le 20 mars 2020.

Mots-clés :

Listeria monocytogenes, les fromages de ferme de Belgique, croissance, étude de vieillissement, test de croissance

Key terms:

Listeria monocytogenes, Belgian homestead cheeses, growth, durability study, challenge test

Table des matières

Résumé	3
Summary.....	5
1. Termes de référence	7
1.1. Questions	7
1.2. Dispositions législatives	7
1.3. Méthode.....	7
2. Définitions et abréviations	7
3. Introduction.....	8
4. Évaluation du projet d'étude sur <i>L. monocytogenes</i> dans les fromages fermiers belges	9
4.1. Objectif du projet d'étude	9
4.2. Concept expérimental du projet d'étude.....	9
4.3. Résultats du projet de recherche.....	10
5. Recommandations pour de futures études relatives au potentiel de croissance de <i>Listeria monocytogenes</i> dans les denrées alimentaires.....	16
6. Remarques générales	17
7. Incertitudes	18
8. Conclusions.....	18
9. Recommandations.....	19
Références	21
Membres du Comité scientifique	23
Conflit d'intérêts	23
Remerciements.....	24
Composition du groupe de travail	24
Cadre juridique	24
Disclaimer	24
Annexe 1 : Critères de sécurité alimentaire pour <i>Listeria monocytogenes</i> d'après le Règlement (CE) N° 2073/2005.....	25

Résumé

Avis 08-2020 du Comité scientifique institué auprès de l'AFSCA sur le potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages fermiers belges

Contexte et Question

Dans son avis 02-2016, le Comité scientifique (SciCom) a recommandé la réalisation de tests de croissance et de tests de vieillissement pour *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) dans le fromage. Sur base de ces recommandations, une étude scientifique a été réalisée dans le but de collecter des données sur les fromages fermiers belges. Il est demandé au Comité scientifique d'évaluer le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans les fromages fermiers belges.

Méthode

Sur base des nouvelles connaissances et des données scientifiques (notamment les résultats du projet d'étude « Étude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages produits par les producteurs fermiers, 2019 ») et sur la base d'un avis d'expert, le Comité scientifique a évalué le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans les fromages fermiers belges (fromages frais, fromages à pâte molle et fromages à pâte mi-dure).

Résultats

Les processus de production des fromages fermiers belges et leurs caractéristiques ont été inventoriés au moyen d'une enquête réalisée auprès de 142 producteurs et d'une étude de marché portant sur 65 fromages fermiers belges différents. Par la suite, la croissance de *L. monocytogenes* dans 32 fromages fermiers belges a été étudiée au moyen de tests de croissance. Aucune croissance de *L. monocytogenes* n'a été observée pour les fromages frais. Pour la catégorie des fromages à pâte molle, on a constaté une croissance de *L. monocytogenes* dans 7 des 8 fromages. Pour les fromages à pâte mi-dure, de fortes variations du potentiel de croissance de *L. monocytogenes* ont été observées. Des tests de vieillissement ont été effectués sur cinq fromages fermiers belges naturellement contaminés par *L. monocytogenes*, à chaque fois sur un seul lot. Seulement pour la feta, aucune croissance n'a été détectée lors de ce test de vieillissement.

Conclusions

Sur base des données disponibles, le Comité scientifique constate que dans les fromages frais (fromages fermiers belges), le risque de développement de *L. monocytogenes* est faible si le pH atteint des valeurs en dessous de 5,0 à la fin du processus de production. Sur base des tests de croissance, la croissance de *L. monocytogenes* dans les fromages à pâte molle et à pâte mi-dure ne peut être exclue. Les fromages à pâte molle sont un produit à risque connu. Les fromages à pâte mi-dure comportent un risque potentiel de croissance de *L. monocytogenes* et le potentiel de croissance doit être évalué au cas par cas. Le test de vieillissement avec la feta ne présente aucune croissance de *L.*

monocytogenes. Un seul test de vieillissement est cependant insuffisant pour conclure que tous les fromages de type « feta » sont des produits à faible risque.

En outre, une mise en œuvre correcte des bonnes pratiques de production (GMP) et une analyse des dangers adéquate ainsi qu'une bonne gestion des points critiques de maîtrise dans le processus de production (HACCP) restent essentielles en vue de tendre vers l'absence de *L. monocytogenes* (dans 25 g) dans le fromage fermier belge (de préférence échantillonnage de plusieurs unités, c.-à-d. n=5) pour la livraison d'un produit sûr au consommateur.

Recommandations

Le Comité scientifique recommande d'inclure, dans les procédures HACCP, des contrôles du pH à la fin du processus de production des fromages frais (fromages fermiers belges) en guise de mesure de maîtrise, afin que l'opérateur puisse s'assurer qu'il y a eu une diminution suffisante du pH à la fin du processus de production. Pour les futures études de vieillissement présentant de faibles concentrations initiales en *L. monocytogenes* (< 10 ufc/g), il est recommandé d'obtenir également des données semi-quantitatives en isolant la bactérie sur de plus petites quantités comme 10 g et 1 g ou de déterminer le nombre le plus probable ('Most Probable Number') de *L. monocytogenes*. Enfin, il est proposé, si possible, d'utiliser un niveau de contamination initial en dessous de 1000 ufc/g *L. monocytogenes* pour les tests de vieillissement afin de pouvoir estimer le potentiel de croissance effectif.

Summary

Advice 08-2020 of the Scientific Committee established at the FASFC on the growth potential of *Listeria monocytogenes* in Belgian homestead cheese

Background and terms of reference

In its advice 02-2016, the Scientific Committee (SciCom) made recommendations for carrying out challenge and durability tests for *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) in cheese. On the basis of these recommendations, a scientific study was carried out in order to collect data from Belgian homestead cheeses. The Scientific Committee was asked to evaluate the growth potential of *L. monocytogenes* in Belgian homestead cheeses.

Method

Based on new scientific knowledge and data (including the results of the study project " Étude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages produits par les producteurs fermiers, 2019") and based on expert opinion, the Scientific Committee has assessed the growth potential of *L. monocytogenes* in Belgian homestead cheeses (fresh cheeses, soft cheeses and semi-hard cheeses).

Results

The production processes of Belgian homestead cheeses and their characteristics were examined by means of a survey of 142 producers and a market study of 65 different Belgian homestead cheeses. Subsequently, the growth of *L. monocytogenes* in 32 Belgian homestead cheeses was studied by means of challenge tests. No growth of *L. monocytogenes* was observed for fresh cheeses. For soft cheeses, there was growth of *L. monocytogenes* in 7 out of 8 cheeses. For the semi-hard cheeses, much variation was observed for the growth potential of *L. monocytogenes*. Durability tests were carried out on five Belgian farm cheeses which were naturally contaminated with *L. monocytogenes*, each on one batch. Only for feta, no growth was detected in this durability test.

Conclusions

Based on the available data, the Scientific Committee concludes that in fresh cheeses (Belgian homestead cheeses) the risk of *L. monocytogenes* growth is low if the pH value drops below 5,0 by the end of the production process.

Based on the challenge tests, the growth of *L. monocytogenes* in soft cheeses and semi-hard cheeses cannot be excluded. Soft cheeses are a known risk product. Semi-hard cheeses present a potential risk for growth of *L. monocytogenes* and the growth potential should be assessed on a case-by-case basis. The durability test with feta shows no growth of *L. monocytogenes*. However, a single durability test is not sufficient to conclude that all feta cheeses are a low risk product.

In addition, a correct implementation of Good Manufacturing Practices (GMP) and an adequate Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) remain essential, with the aim of striving for the absence of *L. monocytogenes* (in 25 g) in Belgian homestead cheese (preferably sampling several units n=5) for the delivery of a safe product to the consumer.

Recommendations

The Scientific Committee recommends that pH controls at the end of the production process of fresh cheeses (Belgian homestead cheeses) are included in the HACCP procedures as a control measure, so that the operator can ensure that a sufficient pH reduction has occurred at the end of the production process. It is recommended that in future durability studies with low initial concentrations of *L. monocytogenes* (< 10 cfu/g) also semi-quantitative data are collected by carrying out isolations on smaller quantities such as 10 g and 1 g or by determining the Most Probable Number of *L. monocytogenes*. Finally, for durability tests it is proposed to use, when possible, an initial contamination level below 1000 cfu/g *L. monocytogenes* in order to be able to effectively assess growth potential.

1. Termes de référence

1.1. Questions

Le Comité scientifique est invité à formuler un avis sur la croissance potentielle de *L. monocytogenes* dans les fromages fermiers produits en Belgique, et plus particulièrement sur la question de savoir si certaines catégories de fromages peuvent être classées dans la catégorie des denrées alimentaires prêtes à consommer qui ne favorisent pas la croissance de *L. monocytogenes*, compte tenu des résultats du projet d'étude "Étude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages produits par les producteurs fermiers, 2019".

Il est en outre demandé au Comité scientifique de formuler des recommandations méthodologiques pour d'éventuelles futures études sur le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans les denrées alimentaires.

1.2. Dispositions législatives

Règlement (CE) N° 2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.

1.3. Méthode

Le Comité scientifique a évalué l'étude fournie sur le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans les fromages fermiers belges. Sur la base de données scientifiques et d'avis d'experts, le Comité scientifique a évalué la croissance potentielle de *L. monocytogenes* dans les fromages fermiers produits en Belgique.

2. Définitions et abréviations

δ	Le potentiel de croissance
AFSCA	Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire
a_w	l'activité de l'eau
BPF	Bonnes pratiques de fabrication (Good Manufacturing Practices)
CSS	Conseil Supérieur de la Santé
HACCP	Analyse des dangers et gestion des points critiques de maîtrise (<i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>)
MPN	Méthode du nombre le plus probable (<i>Most Probable Number</i>)
pH	Le potentiel hydrogène
SciCom	Comité scientifique institué auprès l'AFSCA
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise

UE	Union européenne
UFC	Unité formant colonie (CFU, <i>Colony Forming Unit</i> en anglais)

Vu les discussions durant les réunions du groupe de travail des 25 octobre et 11 décembre 2019 et les séances plénières du Comité scientifique des 22 novembre 2019 et 20 mars 2020,

le Comité scientifique émet l'avis suivant :

3. Introduction

L. monocytogenes est une bactérie pathogène très répandue dans l'environnement, y compris dans les milieux de production alimentaire. *L. monocytogenes* peut se développer à une température comprise entre -2°C et 45°C, en d'autres termes, également pendant la conservation au réfrigérateur (ANSES, 2011). Une infection par *L. monocytogenes*, suite à la consommation de denrées alimentaires contaminées, peut provoquer divers syndromes chez l'homme. Le tableau clinique peut varier d'une maladie gastro-intestinale légère à une maladie invasive plus grave pouvant entraîner une septicémie et une méningite dont l'issue peut être fatale. En 2018, il y a eu 2549 cas confirmés au sein de l'UE, avec un taux de mortalité de 15,6 % pour les 1469 cas rapportés dont l'issue est connue. De plus, il y avait en Europe, au cours de la période 2008-2018, une tendance à la hausse du nombre de cas de listériose. Les infections à *Listeria* ont le plus souvent été signalées dans le groupe d'âge des plus de 64 ans et particulièrement dans le groupe des plus de 84 ans. La tranche d'âge des plus de 64 ans représente une part de plus en plus importante des cas de listériose dans l'UE : 56,0 % en 2008, 69,1 % en 2018. Le taux de mortalité en 2018 était de respectivement 16,2 % et 17,9 % dans les tranches d'âge des plus de 64 ans et des plus de 84 ans (EFSA et ECDC, 2019). En raison du fait que la probabilité de présenter les divers syndromes augmente chez les personnes âgées, on pourrait à tort croire que l'augmentation de l'âge est associée à des infections à *L. monocytogenes*. L'âge n'est toutefois qu'indirectement associé aux infections par *L. monocytogenes* (CSS/ SciCom, 2016). La probabilité d'une maladie dépend de plusieurs facteurs, dont la dose infectieuse, la virulence de la souche concernée, la matrice alimentaire concernée et la sensibilité de l'hôte (FDA, 2013). Certaines catégories de la population présentent un risque plus élevé d'infections par *L. monocytogenes*, plus particulièrement les femmes enceintes et les personnes souffrant de troubles médicaux sous-jacents. Un risque accru (> 100 fois) d'infections par *L. monocytogenes* est associé à plusieurs formes de cancer (principalement des cancers du sang), à des maladies immunitaires (artérite giganto-cellulaire, polyarthrite rhumatoïde, SIDA, colite ulcéreuse, maladie de Crohn), à l'immunosuppression dans le cadre d'un traitement médical (transplantation d'organes, utilisation d'immunosuppresseurs), à l'hémodialyse, à la cirrhose du foie et à l'utilisation d'antiacides (Goulet *et al.*, 2012 ; HGR/ SciCom, 2016).

Les critères pour *L. monocytogenes* dans les denrées alimentaires (absence dans 25 g ou <100 ufc/g) sont fixés par le Règlement (CE) N°2073/2005 (annexe 1). Les produits ayant un pH ≤ 4,4 ou une $a_w \leq$

0,92, les produits ayant un $\text{pH} \leq 5,0$ et une $a_w \leq 0,94$ et les produits ayant une durée de conservation inférieure à cinq jours sont clairement considérés comme des denrées alimentaires ne favorisant pas la croissance de *L. monocytogenes* et relèvent du critère <100 ufc/g. Une limite de 100 ufc/g peut également être appliquée aux produits qui favorisent la croissance de *L. monocytogenes* si le producteur peut démontrer, à la satisfaction des autorités compétentes, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant toute la durée de conservation. À l'heure actuelle, les producteurs de produits fermiers doivent le démontrer individuellement pour chaque produit, ce qui n'est pas évident pour les producteurs ayant une production limitée.

Dans ce dossier, nous examinons plus spécifiquement le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans divers fromages fermiers produits en Belgique. Les fromages à pâte molle sont un produit à risque connu pour la listériose (HGR/ SciCom, 2016). Plusieurs foyers de toxi-infection alimentaire collective provoqués par la présence de *L. monocytogenes* dans le fromage se sont déjà produits par le passé, impliquant aussi bien du fromage à base de lait cru que du fromage à base de lait pasteurisé (Gould *et al.*, 2014). Dans ce dossier, sur base de l'étude « Étude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages produits par les producteurs fermiers » réalisée par le consortium Quality Partner s.a., ULiège - Gembloux Agro-Bio Tech, ULiège - FMV, ILVO, le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans différents types de fromages fermiers belges a été évalué.

4. Évaluation du projet d'étude sur *L. monocytogenes* dans les fromages fermiers belges

L'objectif, le concept expérimental et les résultats du projet d'étude sont résumés ci-dessous.

4.1. Objectif du projet d'étude

L'objectif du projet d'étude était de fournir des données scientifiques afin de pouvoir évaluer le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans différents fromages fermiers belges. Les principaux objectifs étaient (i) d'inventorier les différents processus de production et les propriétés physico-chimiques des fromages fermiers produits en Belgique, (ii) d'étudier la possibilité de croissance de *L. monocytogenes* dans ces fromages fermiers belges et (iii) sur cette base, de permettre une meilleure compréhension des critères du règlement (CE) n° 2073/2005 applicables à *L. monocytogenes* pour les différentes catégories de fromages fermiers belges.

4.2. Concept expérimental du projet d'étude

Au début de l'étude, une enquête a été menée auprès de 142 producteurs flamands et wallons afin d'identifier les types de fromage produits en Belgique et de décrire leur processus de production.

Par la suite, 65 fromages ont été sélectionnés pour réaliser un suivi. Des informations sur le processus de production ont été recueillies et divers paramètres, dont le pH et la température à divers stades de production, ont été mesurés. A la fin du processus de production, les 65 fromages concernés ont été analysés.

Finalement, la croissance de *L. monocytogenes* a été étudiée au moyen de tests de croissance (contamination artificielle) et de tests de vieillissement (contamination naturelle). La croissance de *L. monocytogenes* a été étudiée dans 32 fromages fermiers belges en inoculant des lots de fromage et

en comparant les dénombrements entre le premier et le dernier jour de conservation. En outre, cinq tests de vieillissement ont été effectués sur différents types de fromage présentant une contamination naturelle par *L. monocytogenes* et provenant d'un seul et même producteur. Pour les tests de vieillissement, des dénombrements ont été effectués le jour de la réception et le dernier jour de conservation.

4.3. Résultats du projet de recherche

Résultats de l'enquête

Au total, 142 producteurs (32 flamands et 110 wallons) ont participé à une enquête et 424 fromages différents ont été identifiés, dont 326 étaient produits en Wallonie et 96 en Flandre. Il existe des différences de production entre les régions (Flandre et Wallonie).

- En Flandre, plus de 70 % des producteurs avaient plus de 20 ans d'expérience contre 36 % en Wallonie.
- En Wallonie, la majorité (79 %) des fromages identifiés sont fabriqués directement à partir de lait frais, tandis qu'en Flandre, 60 % des fromages identifiés sont fabriqués à partir de lait réfrigéré provenant d'une cuve.
- De manière générale, la majorité des fromages fermiers belges sont produits à partir de lait cru (87 %). Mais les producteurs flamands utilisent plus fréquemment du lait pasteurisé (42,9 % du nombre de fromages identifiés) que les producteurs wallons (3,0 % du nombre de fromages identifiés) pour la production des différents fromages.
- La production de fromage en Flandre se fait dans plus de 80 % des cas avec des volumes supérieurs à 100 litres par lot, contre 49 % en Wallonie.
- 92 % des producteurs déclarent ajouter des cultures starter. Tous les producteurs flamands indiquent qu'ils ajoutent des bactéries lactiques comme culture starter, ce qui n'est pas toujours le cas des producteurs wallons.

Pour 56 % des fromages étudiés, il y avait une période de maturation du lait, c'est-à-dire une période débutant après l'ajout des cultures starter et durant laquelle il y a une acidification biologique du lait avant l'ajout de présure. De la présure a été ajoutée dans 94,9 % des fromages. Pour la production de 4 % des fromages étudiés, aucune culture starter ni aucune présure n'a été ajoutée, cette catégorie comprend e.a. des fromages spécifiques tels que la ricotta, la mozzarella ou le mascarpone. Aucun des opérateurs interrogés n'a déclaré ajouter un acide organique pour accélérer l'acidification du lait, il s'agit plutôt d'une pratique industrielle.

Données de l'étude de marché

Sur base des données de l'enquête, 65 fromages ont été sélectionnés pour réaliser un suivi de la production. À la fin du processus de production, les produits concernés ont été analysés. Un seul fromage avait un pH et une a_w suffisamment faibles pour pouvoir garantir, exclusivement sur base de ces deux paramètres, que *L. monocytogenes* ne pouvait pas se développer conformément aux critères du Règlement (CE) n° 2073/2005.

Les données des produits finis ont été classées selon les trois catégories technologiques principales (fromages frais, fromages à pâte molle et fromages à pâte dure/mi-dure). Les propriétés physico-chimiques des fromages frais semblent assez homogènes. À l'exception d'une valeur aberrante (pH =

5,5), toutes les valeurs de pH sont inférieures à 4,75 (Figure 1). De manière générale, les fromages frais sont donc acides en combinaison avec une valeur a_w élevée (Tableau 1). Les valeurs de pH observées sont assez proches des limites de développement/d'absence de développement (limite de $\text{pH} \leq 4,4$) fixées dans la législation (Règlement (CE) n° 2073/2005). Pour la catégorie des fromages à pâte mi-dure/dure la plupart des valeurs de l' a_w des fromages étaient élevées ($> 0,92$), démontrant que ces fromages appartiennent à la catégorie 'fromages à pâte mi-dure' et pas aux fromages à pâte dure (Figure 1).

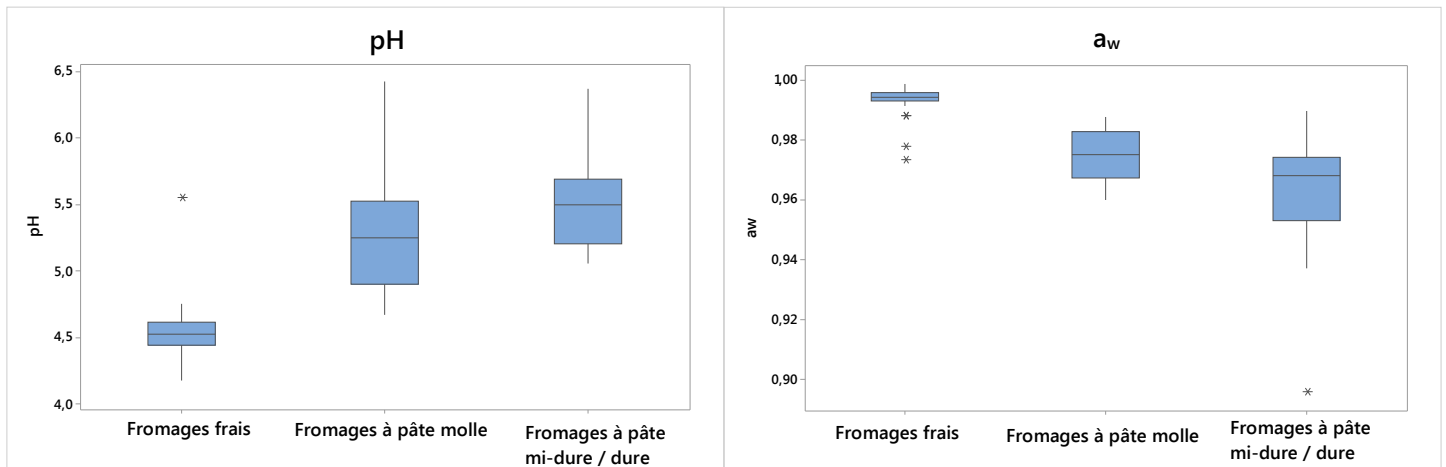


Figure 1. Valeurs de pH et valeurs d' a_w (représentées sous forme de boxplots) observées lors de l'étude de marché des fromages fermiers belges pour les fromages frais, les fromages à pâte molle et les fromages à pâte dure/mi-dure

Tableau 1. Statistiques descriptives pour les valeurs de pH et d' a_w observées lors de l'étude de marché des fromages fermiers belges pour les fromages frais, les fromages à pâte molle et les fromages à pâte dure/mi-dure

Type	N	Paramètre	Moyenne	SD	Valeur				Valeur maximale
					minimale	Q1	Médiane	Q3	
Fromages frais	25	pH	4,6	0,2	4,2	4,4	4,5	4,6	5,5
		a_w	0,99	0,01	0,97	0,99	0,99	0,99	1
Fromages à pâte molle	17	pH	5,3	0,5	4,7	4,9	5,3	5,5	6,4
		a_w	0,98	0,01	0,96	0,97	0,97	0,98	0,99
Fromages à pâte mi-dure / dure	22	pH	5,5	0,3	5,1	5,2	5,5	5,7	6,4
		a_w	0,96	0,02	0,89	0,95	0,96	0,97	0,99

N : nombre de fromages analysés, SD : écart-type, Q1 : premier quartile, Q3 : troisième quartile

Sur base des données recueillies, les auteurs du projet d'étude ont développé un outil de classification des fromages fermiers belges. Les données ont été divisées en trois ensembles, à savoir les fromages frais, les fromages à pâte molle et les fromages à pâte dure/mi-dure. À titre d'illustration, le Brie et le Herve sont des fromages à pâte molle, tandis que le gouda est un fromage à pâte mi-dure et le parmesan est un fromage à pâte dure. Ont respectivement été identifiés 3, 3 et 6 clusters pour les fromages frais, les fromages à pâte molle et les fromages à pâte dure/mi-dure. Outre ces clusters, deux groupes supplémentaires (le fromage au babeurre et le fromage à pâte persillée) ont été formés, chacun ne contenant qu'un seul fromage en raison de leur méthode de production complètement différente par rapport aux autres clusters. Cette répartition basée sur des analyses statistiques

détaillées des paramètres physico-chimiques ne diffère pas des classifications habituellement utilisées dans les fromageries selon les différentes technologies de production. L'utilisation des paramètres physico-chimiques n'offre donc aucune valeur ajoutée à la classification de ces produits, en comparaison avec les classifications basées sur les différentes technologies.

Données des tests de croissance

La croissance de *L. monocytogenes* a ensuite été étudiée dans 32 fromages fermiers belges au moyen de tests de croissance (Tableau 2). La classification des fromages dans les catégories fromages frais, fromages à pâte molle et fromages à pâte dure/mi-dure est basée sur le processus de production de ces fromages. La version actuelle du « *EURL Lm technical guidance document for conducting shelf-life studies on Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods* » calculant le potentiel de croissance sur base des médianes des dénombrements. Le Comité scientifique l'a recalculé sur base de valeurs extrêmes des dénombrements, comme la différence entre la valeur minimale le jour de la réception et la valeur maximale à la fin de la durée de conservation, par analogie avec l'avis du SciCom 11-2019 sur le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans les beurres au lait cru. Et ce, afin de pouvoir prendre en compte les *worst-cases*. Ce sont ces résultats recalculés qui sont présentés dans le tableau 2.

Concernant le potentiel de croissance de *L. monocytogenes*, le document « *EURL Lm technical guidance document for conducting shelf-life studies on Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods* » mentionne ce qui suit (EURL, 2019) :

- Si $\delta > 0,5 \log_{10} \text{ ufc/g}$, l'aliment permet le développement de *L. monocytogenes* (catégorie 1.2 du règlement (CE) n°2073/2005) ;
- Si $\delta < 0,5 \log_{10} \text{ ufc/g}$, l'aliment ne permet pas le développement de *L. monocytogenes* (catégorie 1.3 du règlement (CE) n° 2073/2005) ;

Fromages frais

Pour les fromages frais, des données sont disponibles pour 12 fromages (12 tests de croissance avec 1 lot, dont 10 à base de lait cru) et aucun développement de *L. monocytogenes* n'a été observé. La durée de conservation des fromages frais sélectionnés variait de 7 à 19 jours. Le Comité scientifique note que la valeur de pH maximale observée au début des tests de croissance était de 4,93. Cela signifie que les conditions « *worst-case* » n'ont pas été couvertes, étant donné qu'un pH maximum de 5,5 a été détecté lors de l'étude de marché. Il n'est donc pas possible de se prononcer sur le risque de croissance de *L. monocytogenes* que dans certaines limites. Sur base des données disponibles, le Comité scientifique estime que le risque de croissance de *L. monocytogenes* est faible pour les fromages frais dont le pH est inférieur à 5,0 en fin de production.

Fromages à pâte molle

Pour les fromages à pâte molle, la croissance de *L. monocytogenes* a été observée dans la majorité des tests de croissance (7/8). Dans les tests de croissance CT19 et CT29, on a même constaté un développement très important (3 - 5 log ufc/g). Les valeurs de pH élevées de ces produits, mesurées à cœur, peuvent expliquer le développement observé de *L. monocytogenes*. Il semble que la présence de microflore compétitive (on s'attend surtout à la présence de bactéries lactiques en raison du processus de fermentation) ne suffise pas à empêcher le développement de *L. monocytogenes*. Le

Comité scientifique considère cette catégorie comme présentant un risque de développement de *L. monocytogenes*. Le Comité scientifique estime que des tests de croissance supplémentaires pour ce type de produit sont généralement peu utiles, étant donné que les fromages à pâte molle sont un produit à risque connu pour la listériose (CSS/SciCom, 2016). Plusieurs études ont déjà montré que *L. monocytogenes* peut se développer dans les fromages à pâte molle (Lahou et Uyttendaele, 2017 ; Boon *et al.*, 2015, D'Amico *et al.*, 2008). En outre, plusieurs foyers de listériose ont déjà été liés à la consommation de différents types de fromages à pâte molle (Jackson *et al.*, 2018 ; Amato *et al.*, 2017; McIntyre *et al.*, 2015). Par ailleurs, pour la majorité des tests de croissance, on a constaté une croissance de plus de 2 log ufc/g, de sorte que même avec un faible niveau de contamination initial, la limite de 100 ufc/g serait dépassée à la fin de la durée de conservation. En outre, des variations importantes ont été observées dans les résultats des tests de croissance des différents lots pour un seul et même type de fromage. Une évaluation au cas par cas est toutefois possible si un producteur peut démontrer, sur base de ses propres données, que pour un fromage particulier, il n'y aura pas de croissance allant jusqu'à 100 ufc/g à la fin de la durée de conservation. C'était par exemple le cas du test de croissance CT1.

Fromages à pâte mi-dure

Le Comité scientifique note que les valeurs a_w des fromages sont élevées ($> 0,92$) et que les fromages utilisés pour les tests de croissance appartiennent, par conséquent, à la catégorie des fromages à pâte mi-dure. Aucun test de croissance n'a été effectué sur des fromages à pâte dure dans le projet d'étude.

Pour la catégorie des fromages à pâte dure/mi-dure, on a observé de fortes variations entre les produits, mais aussi entre les lots d'un même fromage. Cela démontre qu'un échantillonnage de fromages de plusieurs lots est nécessaire pour obtenir une image correcte du potentiel de croissance dans un produit. D'autres études scientifiques ont également démontré que le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* est très variable, à la fois entre plusieurs lots ainsi qu'au sein de divers lots d'un même type de fromage (Lahou et Uyttendaele, 2017). En raison de la variabilité au sein d'un même lot, il est conseillé de calculer le potentiel de croissance en se basant sur les valeurs extrêmes des réplicats plutôt que sur les valeurs médianes, ce qui a conduit aux résultats du tableau 2.

Le Comité scientifique estime que, en termes de risque microbiologique, certaines sous-catégories (par exemple, les fromages trempés dans de la bière ou les fromages pauvres en lactose) diffèrent peu de fromages similaires sans ce traitement. Plusieurs facteurs (pH, a_w , température, etc.) ont un impact sur le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans les fromages à pâte mi-dure. Une étude a déjà démontré que l'acide lactique non dissocié est un facteur important dans le gouda, avec un effet inhibiteur sur la croissance de *L. monocytogenes* (Wemmenhove *et al.*, 2018).

La probabilité de croissance de *L. monocytogenes* est moins prononcée par rapport à la catégorie des fromages à pâte molle, mais il n'est pas possible de définir des produits moins risqués de manière structurée. Cette catégorie comporte un risque potentiel de croissance de *L. monocytogenes* et le potentiel de croissance doit, par conséquent, être évalué au cas par cas. Si un producteur peut démontrer sur trois lots de production différents qu'aucun développement de *L. monocytogenes* n'est possible en cas de contamination naturelle ou au moyen de tests de croissance, ce produit peut être considéré comme un produit à faible risque. Chaque producteur doit toutefois le confirmer individuellement pour chaque type de fromage.

Tableau 2. Résultats de 32 tests de croissance pour *L. monocytogenes* avec des fromages fermiers belges

	N° CT	Type de lait	Potentiel de croissance calculé à partir de la différence médiane			Potentiel de croissance calculé à partir de la différence entre les valeurs extrêmes			pH J0			pH DLC			Durée de conservation (jours)
			δLot1	δLot2	δLot3	δLot1	δLot2	δLot3	Lot1	Lot2	Lot3	Lot1	Lot2	Lot3	
Fromages frais	CT2	C	-1,04			-0,43			4,47 - 4,48			4,32 - 4,40			19
	CT9	C	-1,43			-0,92			4,36 - 4,37			4,35 - 4,38			7
	CT22	C	-1,16			-0,30			4,47 - 4,49			4,50 - 4,57			10
	CT24	C	-0,68			-0,63			4,43			4,45 - 4,49			10
	CT28	C	-0,48			0,00			4,44 - 4,45			4,53 - 4,54			10
	CT3	C	-0,95			-0,60			4,42 - 4,45			4,52 - 4,54			14
	CT5	P	-0,53			-0,52			4,41			5,15 - 5,28			16
	CT10	C	-1,59			-1,44			4,47			4,99 - 5,23			12
	CT6	P	-1,04			-0,43			4,42 - 4,93			4,67 - 4,87			10
	CT13	C	-0,95			-0,54			4,32 - 4,34			4,64 - 6,32			15
	CT16	C	-1,19			-1,08			4,32 - 4,37			4,37 - 4,74			8
	CT17	C	-1,05			-0,95			4,28 - 4,30			4,42 - 4,52			14
	Fromages à pâte molle	CT1	C	-0,68	-0,99	-1,05	-0,30	0,18	-0,35	5,35 - 5,58	5,11 - 5,21	5,45 - 5,82	7,15 - 7,30	6,2	6,27 - 6,87
CT27		C	0,83	1,59	-0,14	1,47	2,24	2,15	5,24 - 5,28	5,42 - 5,48	5,37 - 5,93	5,85 - 5,92	6,49 - 6,73	6,34 - 6,75	30
CT30		C	1,04	2,68	-0,30	1,80	2,93	0,15	5,70 - 5,92	5,46 - 5,67	5,17 - 5,29	6,88 - 7,55	6,58 - 7,94	6,66 - 6,89	30
CT31		C	1,29	2,16	1,33	1,90	2,68	1,39	5,58 - 5,83	5,56 - 5,70	5,86 - 6,05	7,69 - 7,80	7,58 - 7,63	7,47 - 7,70	40
CT19		P	4,70	3,35	2,20	4,98	3,54	5,31	6,65 - 7,09	6,51 - 6,91	5,64 - 6,14	6,65 - 7,09	7,62 - 7,90	7,62 - 7,71	30
CT29		C	4,44	4,45	3,84	4,52	5,35	5,28	5,60 - 5,64	6,36 - 6,69	5,76 - 5,81	7,34 - 7,40	7,74 - 7,86	7,33 - 7,51	30
CT8		C	0,93	-0,68	-0,20	1,05	1,03	0,83	4,55 - 5,03	5,21 - 7,01	4,73 - 5,13	6,05 - 7,00	6,44 - 7,80	5,54 - 5,96	28
CT20		C	1,53	1,33	0,70	1,63	1,53	1,19	5,54 - 6,11	5,68 - 5,82	5,56 - 5,62	7,35 - 7,71	6,32 - 7,15	6,02 - 7,45	30
Fromages à pâte mi-dure		CT4	P	-1,49	-0,74	-0,89	-1,36	-0,30	-0,82	5,82 - 6,09	5,76 - 5,97	5,84 - 6,00	5,86 - 6,23	5,74 - 5,87	5,87 - 5,92
	CT7	P	-0,12	-0,38	-0,07	0,30	0,77	0,04	5,52 - 5,81	5,84 - 5,87	5,74 - 5,80	5,93 - 6,10	5,82 - 5,84	5,80 - 5,86	30
	CT11	P	-1,13	-0,60	-0,23	-0,64	-0,07	0,04	5,83 - 5,90	5,84 - 5,89	5,85 - 6,02	6,08 - 6,81	5,89 - 5,95	6,11 - 6,22	21
	CT18	C	1,19	-0,90	-0,18	1,23	0,10	0,28	5,88 - 5,96	6,01 - 6,11	6,01 - 6,08	6,04 - 6,22	6,02 - 6,26	6,11 - 6,15	21
	CT12	C	-0,35	-0,41	0,08	-0,13	0,04	0,04	5,60 - 5,71	5,77 - 5,85	5,78 - 5,81	5,65 - 5,88	5,74 - 6,10	5,81 - 5,86	14
	CT32	C	-0,52	0,12	-0,41	-0,10	0,33	0,06	5,81 - 6,10	5,88 - 5,92	5,59 - 5,77	5,84 - 6,42	6,05 - 6,09	5,79 - 5,84	14
	CT14	C	-0,48			-0,46			5,36 - 5,43			5,39 - 5,47			21
	CT15	C	0,04	-0,94	0,93	0,50	-0,70	1,38	5,95 - 5,99	5,91 - 5,94	5,78 - 5,91	6,16 - 6,40	5,76 - 6,10	5,90 - 6,03	14
	CT21	C	-0,27	-0,48	-0,20	0,87	0,10	0,24	5,50 - 5,67	5,64 - 5,78	5,85 - 5,94	/	/	5,92 - 6,52	21
	CT23	C	-0,53			0,46			5,56 - 5,71			5,63 - 5,70			30
	CT26	C	-0,37	-0,05	0,23	-0,22	0,28	0,70	5,75 - 5,91	5,83 - 6,00	5,83 - 6,00	5,96 - 6,09	5,9 - 6,03	5,94 - 6,04	14
	CT25	C	-0,05	-0,08	-0,12	0,35	2,76	1,18	5,59 - 5,69	5,45 - 5,98	5,09 - 5,49	6,45 - 6,96	6,74 - 6,92	5,81 - 6,02	21

N° CT : numéro du test de croissance (challenge test), Type de lait: C (lait cru), P (lait pasteurisé), J0: Jour de la première analyse (à la réception), DLC: Fin de la durée de conservation

Tests de vieillissement

Tous les lots de fromage qui ont été étudiés durant les tests de vieillissement proviennent d'un seul producteur et ont été produits entre le 8 et le 13 février 2019. Ce sont les seules contaminations naturelles de *L. monocytogenes* qui ont été découvertes au cours du projet d'étude. Après l'utilisation de lait de brebis pour la production de différents types de fromage, le producteur a constaté que le lait était contaminé par *L. monocytogenes*. Après enquête, il s'est avéré que la contamination avait été provoquée par un seul mouton du troupeau. Outre les ovins, une infection due à une mammites (sub-) clinique peut également être la cause de la présence de *L. monocytogenes* dans le lait chez les bovins et les caprins (Addis *et al.*, 2019; Fthenakis *et al.*, 1998; Jensen *et al.*, 1996; Bourry *et al.*, 1995).

Le Comité scientifique fait remarquer que dès le début des tests de vieillissement, des concentrations élevées en *L. monocytogenes* étaient déjà observées (2,5 - 7 log₁₀ ufc/g). Ces lots sont impropres à la consommation. Afin d'étudier la croissance de *L. monocytogenes*, des concentrations initiales plus faibles, autour de 100 ufc/g, sont préférées. En cas de lots naturellement contaminés, le Comité scientifique recommande que, de préférence, seuls les lots présentant un niveau de contamination inférieur à 1000 ufc/g soient inclus dans la surveillance ultérieure. En effet, lors d'un niveau de contamination initialement élevé, l'agent pathogène peut éventuellement être en position dominante et provoquer ainsi des interférences avec les microflores naturellement présentes dans le fromage, les résultats obtenus n'étant dès lors plus pertinents pour des lots présentant un faible niveau de contamination occasionnel (< 100 ufc/g). En outre, des nombres élevés (certainement le cas si > 6-7 log₁₀ ufc/g) peuvent indiquer que la concentration maximale a déjà été atteinte et que les cellules se trouvent dans une phase stationnaire. De plus, des concentrations de 6-7 log₁₀ ufc/g ne sont pas représentatives de ce que l'on peut raisonnablement attendre en termes de niveau de contamination initial dans le cadre d'une contamination naturelle occasionnelle. Ce point d'attention est ici particulièrement important étant donné que ces tests de vieillissement sont réalisés afin de pouvoir éventuellement utiliser à l'avenir le critère <100 ufc/g à la fin de la production, il s'agit donc de contaminations inférieures à 2 log₁₀ ufc/g.

Le potentiel de croissance calculé sur la base des valeurs médianes montre qu'il n'y a aucune croissance de *L. monocytogenes* pour tous les tests de vieillissement. Toutefois, si l'on utilise des valeurs extrêmes pour le calcul du potentiel de croissance, c.-à-d. la valeur minimale au début de l'expérimentation et la valeur maximale à la fin du test de vieillissement, une croissance est bel et bien observée pour quatre des cinq tests de vieillissement (Tableau 3). Pour le test de vieillissement réalisé avec de la feta, aucune croissance de *L. monocytogenes* n'a été observée. Un seul test de vieillissement n'est toutefois pas suffisant pour conclure que tous les fromages de type feta sont des produits à faible risque. Des tests de vieillissement doivent être effectués sur au moins trois lots distincts et naturellement contaminés afin de pouvoir interpréter les résultats de ces tests de vieillissement dans le cadre des variations naturellement attendues dans la composition physicochimique et microbiologique des divers lots du même type de fromage (SciCom, 2016).

Tableau 3. Résultats de 5 tests de vieillissement pour *L. monocytogenes* avec des fromages fermiers belges

Type de fromage	Médiane à J0 (log ufc/g)	Médiane à DLC (log ufc/g)	δ (valeurs médianes)	Minimum J0 (log ufc/g)	Maximum DLC (log ufc/g)	δ (valeurs extrêmes)	pH J0	pH DLC
Feta	2,44	0,95	-1,49	2,1	2,3	0,22	5,17 - 5,28	5,27 - 5,36
Pâte molle à croûte fleurie	7,84	7,89	0,05	6,8	8,5	1,68	6,12 - 6,95	6,24 - 6,25
Pâte molle à croûte lavée	6,7	6,64	-0,06	5,9	7	1,11	6,77 - 7,04	6,52 - 7,59
Pâte persillée	7,59	7,28	-0,31	5,6	8,2	2,61	7,45 - 7,46	7,9 - 7,93
Pâte mi-dure non cuite	4,6	4,81	0,2	2,8	6,4	3,67	5,69 - 5,72	6,88 - 7,07

J0: Jour de la première analyse (à la réception), DLC: Fin de la durée de conservation

5. Recommandations pour de futures études relatives au potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans les denrées alimentaires

- Les recommandations issues de l'avis 02-2019 du SciCom relatif à la réalisation de tests de croissance et/ou de tests de vieillissement pour *L. monocytogenes* dans le fromage doivent également être prises en compte pour de futures études sur le potentiel de croissance de *L. monocytogenes*.
- Il existe une grande variabilité au niveau du potentiel de croissance de *L. monocytogenes*, aussi bien entre qu'au sein des divers lots d'un même type de fromage (Lahou et Uyttendaele, 2017). En raison de la variabilité au sein d'un même lot, il est conseillé de calculer le potentiel de croissance en se basant sur les valeurs extrêmes des réplicats plutôt que sur les valeurs médianes. De cette manière, on examine une situation « *worst-case* ». Si l'on prend une décision concernant un groupe de produits, il est tout à fait pertinent de l'appliquer.
- Le Comité scientifique recommande que pour les tests de vieillissement sur des lots naturellement contaminés, seuls les lots ayant un niveau de contamination initial inférieur à 1000 ufc/g soient pris en considération. En cas de niveau de contamination initialement élevé, l'agent pathogène peut éventuellement être en position dominante et provoquer ainsi des interférences avec les microflores naturellement présentes dans le fromage, les résultats obtenus n'étant dès lors plus pertinents. En outre, des nombres élevés peuvent indiquer que la concentration maximale a déjà été atteinte et que les cellules se trouvent en phase stationnaire.
- Une faible contamination initiale implique une incertitude de mesure liée à la limite de détection (<10 ufc/g) dans le cadre de la méthode actuellement utilisée. Cette incertitude peut conduire à une marge de > 2 log lors de la détermination du potentiel de croissance. Dans le cas des tests de vieillissement avec une faible contamination initiale (< 10 ufc/g) de *L. monocytogenes*, le Comité scientifique recommande de réaliser de meilleures estimations de

la contamination initiale en isolant la bactérie sur de plus petites quantités (10 g, 1 g). Il convient d'utiliser comme alternative la méthode du nombre le plus probable (MPN) afin d'également déterminer les nombres estimés pour les faibles dénombrements (<10 ufc/g) (« estimé » indique le fait que la MPN ne peut être considérée comme un dénombrement exact mais plutôt comme un résultat de dénombrement soumis à une plus grande incertitude qu'une méthode de comptage sur plaque). De cette manière, l'incertitude peut être réduite lors de la détermination du potentiel de croissance.

- Lorsque des tests de croissance ou de vieillissement sont réalisés afin de déterminer le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* pour un groupe de produits (par ex. fromages frais), il faut tester le plus possible de produits « *worst-case* ».

6. Remarques générales

- Il est difficile d'arriver à des conclusions générales sur le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* parce que le fromage est un produit naturellement dynamique, comptant un grand nombre de microflores compétitives, diverses et actives, et que la contamination microbiologique peut survenir de manière hétérogène dans/sur ou à travers le produit. Les fromages sont des produits fermentés et sont moins standardisés au niveau de leurs caractéristiques que les autres produits avec une durée de conservation prolongée qui sont conservés réfrigérés comme les charcuteries cuites tranchées, le poisson fumé, les tartinades/salades pour sandwiches, etc. Dans les fromages fermiers belges, il est souvent difficile de prédire une combinaison de plusieurs facteurs qui influencent le potentiel de croissance de *L. monocytogenes*, et ce en raison de la variabilité dans les caractéristiques du produit (pH, a_w , microflores compétitives...) due à une standardisation plus restreinte au niveau du producteur. Il existe également une grande variabilité au niveau du potentiel de croissance de *L. monocytogenes*, aussi bien entre qu'au sein des divers lots d'un même type de fromage (Lahou et Uyttendaele, 2017).
- Les fromages fermiers belges, en particulier les fromages à pâte molle et mi-dure, sont des produits potentiellement à risque pour certains groupes de consommateurs, comme les femmes enceintes et les personnes souffrant de troubles médicaux sous-jacents.
- Une contamination par *L. monocytogenes* peut avoir plusieurs causes. Une contamination du lait cru peut survenir lors de la traite ou à la suite d'une mammite (sub-)clinique, même chez un seul animal du troupeau. Une contamination d'origine environnementale peut également être la cause d'une contamination par *L. monocytogenes* tant du lait pour la production de fromage que du fromage pendant ou après le processus de production. La découpe des produits après la production peut également entraîner une contamination.
- L'application d'une bonne hygiène lors du processus de production reste une recommandation importante. De plus, il convient de respecter autant que possible la chaîne du froid et d'éviter toute contamination croisée avec *L. monocytogenes*. Une mise en œuvre correcte des bonnes pratiques de fabrication (BPF) ainsi qu'une analyse des dangers et une gestion des points critiques de contrôle (HACCP) afin de viser l'absence de *L. monocytogenes* dans le fromage, sont essentielles pour pouvoir commercialiser des produits sûrs (AFSCA, 2012).

7. Incertitudes

Plusieurs incertitudes doivent être prises en compte pour cet avis :

- Il existe une grande variation dans les processus de production des fromages fermiers ainsi que dans les caractéristiques (notamment le pH) des différents types de fromages fermiers belges. La probabilité de croissance de *L. monocytogenes* n'est donc pas la même pour tous les fromages fermiers produits en Belgique. De plus, les conditions « *worst-case* » ne sont pas couvertes par les tests de croissance réalisés.
- Dans le projet d'étude, aucun test de croissance n'a été effectué sur des fromages à pâte dure. Pour la catégorie des fromages à pâte mi-dure/dure, les valeurs de l' a_w des fromages étaient élevées (> 0,92) démontrant que ces fromages appartiennent à la catégorie 'fromages à pâte mi-dure'. Sur base des données du projet d'étude, le Comité scientifique ne peut donc pas se prononcer sur les fromages fermiers belges de la catégorie 'fromages à pâte dure'.
- Les études de vieillissement sont basées sur des contaminations naturelles. Ces dernières ont toutefois montré des niveaux de contamination initiaux élevés. Ces concentrations de départ élevées ne sont pas idéales pour étudier le potentiel de croissance de *L. monocytogenes*. D'une part, l'agent pathogène peut éventuellement être en position dominante et provoquer ainsi des interférences avec les microflores naturellement présentes dans le fromage, les résultats obtenus n'étant dès lors plus pertinents. D'autre part, des nombres élevés peuvent indiquer que la concentration maximale a déjà été atteinte et que les cellules se trouvent en phase stationnaire. De plus, ces concentrations ne sont pas représentatives des contaminations naturelles (< 100 ufc/g) dans des produits qui peuvent éventuellement encore être commercialisés moyennant une preuve suffisante que *L. monocytogenes* ne se développe pas dans ces produits.
- Dans le cadre du calcul du potentiel de croissance, une supposition a été faite. Le calcul du potentiel de croissance de *L. monocytogenes* a eu lieu sur base de la supposition suivante : <10 ufc/g a été assimilé à 9 ufc/g.

Le Comité scientifique fait remarquer que la supposition selon laquelle <10 ufc/g est similaire à 9 ufc/g peut potentiellement donner lieu à une sous-estimation du potentiel de croissance. Si la concentration initiale est inférieure à 9 ufc/g, par exemple 1 ufc/g, le potentiel de croissance est alors supérieur d'1 log par rapport au calcul qui a été utilisé dans cet avis. Pour cette étude, les concentrations initiales étaient suffisamment élevées, mais cela pourrait poser un problème si des études étaient réalisées sur des fromages présentant des contaminations naturelles avec une faible concentration de départ (<10 ufc/g).

8. Conclusions

Les fromages fermiers belges englobent divers produits présentant différentes caractéristiques de produit. Le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans les fromages fermiers belges ne peut être évalué que si des données suffisantes sont disponibles pour une certaine sous-catégorie de ces fromages.

Pour les fromages frais présentant un pH inférieur à 5,0 à la fin de la production, le risque de croissance de *L. monocytogenes* est estimé comme faible. Les fromages à pâte molle constituent des produits à haut risque pour la croissance de *L. monocytogenes* et une étude plus approfondie sur le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans ces fromages est jugée comme peu utile. Pour la catégorie des fromages à pâte mi-dure, une grande variation est observée ; il faut donc considérer cette catégorie comme un produit potentiellement à risque et évaluer les fromages au cas par cas. En résumé, les fromages fermiers belges, en particulier les fromages à pâte molle et mi-dure, sont des produits potentiellement à risque pour certains groupes de consommateurs à risque élevé, tels que les femmes enceintes et les personnes souffrant de certains troubles médicaux sous-jacents (par exemple, une immunodéficience).

Le test de vieillissement réalisé avec de la feta ne présentait aucune croissance de *L. monocytogenes*. Un seul test de vieillissement n'est toutefois pas suffisant pour conclure que tous les fromages feta sont des produits à faible risque. Des tests de croissance ou de vieillissement doivent toujours être effectués sur au moins trois lots indépendants afin de pouvoir extrapoler les résultats relatifs au potentiel de croissance de *L. monocytogenes* à d'autres lots du même type de fromage (SciCom, 2016).

Enfin, le Comité scientifique tient à souligner que les opérateurs devraient toujours viser l'absence de *L. monocytogenes* dans leurs produits. Donc même dans le cas de l'utilisation d'une limite maximale de 100 ufc/g, la détection de *L. monocytogenes* en faibles nombres (soit la présence par 25g, soit 10-99 ufc/g lors de la réalisation d'un dénombrement) doit donner lieu à des mesures correctives et un contrôle supplémentaire de la mise en œuvre des BPF et du système HACCP dans le processus de production.

9. Recommandations

Dans le cadre de cet avis, le Comité scientifique donne les recommandations suivantes :

- Inclure des contrôles du pH dans les procédures HACCP pour le processus de production des fromages fermiers belges de type fromage frais, en vue de vérifier le bon déroulement du processus de production si la limite de 100 ufc/g pour *L. monocytogenes* est utilisée. Le Comité scientifique recommande de contrôler le pH à la fin de la production de chaque lot, avec pour objectif un pH inférieur à 5,0. La détermination du pH doit être effectuée de manière rigoureuse et la valeur mesurée doit être précise au dixième d'unité (0,1). Des mesures correctives doivent être prises si le processus de production se déroule de manière non conforme. Des fromages fermiers belges de type fromage frais avec un pH supérieur à 5,0 constituent un risque potentiellement élevé pour la croissance de *L. monocytogenes*.
- Un seul test de vieillissement n'est pas suffisant pour tirer des conclusions concernant le potentiel de croissance de *L. monocytogenes*. Afin de pouvoir extrapoler des résultats à d'autres lots du même type de fromage, au moins deux tests de croissance ou de vieillissement supplémentaires doivent être effectués. Lorsque des tests de croissance ou de vieillissement sont réalisés afin de déterminer le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* pour un groupe de produits, il faut tester le plus possible de produits « *worst-case* ».

- Pour les tests de vieillissement sur des lots naturellement contaminés, seuls les lots ayant un niveau de contamination initial inférieur à 1000 ufc/g de *L. monocytogenes* doivent être pris en considération.
- Dans le cas de tests de vieillissement avec une faible contamination initiale (< 10 ufc/g) de *L. monocytogenes*, le Comité scientifique recommande d'isoler la bactérie sur de plus petites quantités (10 g, 1 g) ou d'utiliser la méthode du nombre le plus probable (MPN) afin de déterminer les nombres estimés. De cette manière, l'incertitude peut être réduite lors de la détermination du potentiel de croissance.
- Dans la situation actuelle pour laquelle la standardisation au niveau des producteurs est relativement faible, il est conseillé d'informer certains groupes de consommateurs, compte tenu de leur état de santé sous-jacent, sur le risque éventuel des fromages fermiers à pâte molle et mi-dure.
- Les producteurs fermiers de fromages au lait cru doivent être conscients du fait que la mammite (sub-)clinique causée par *L. monocytogenes*, même chez un seul animal du troupeau, peut conduire à des concentrations élevées de *L. monocytogenes* dans le lait utilisé pour la production de fromage. Il est recommandé à ces producteurs fermiers de porter une attention particulière au contrôle de la mammite (sub-)clinique chez leurs animaux.

Pour le Comité scientifique,
Le Président,

Prof. Dr. E. Thiry (Sé.)
Bruxelles, le 24/03/2020

Références

- Addis M. F., Cubeddu T., Pilicchi Y., Rocca S., Piccinini R. (2019). Chronic intramammary infection by *Listeria monocytogenes* in a clinically healthy goat - a case report. *BMC veterinary research* 15(1), 229
- Amato E., Filipello V., Gori M., Lomonaco S., Losio M. N., Parisi A., Huedo P., Knabel S.J., Pontello M. (2017). Identification of a major *Listeria monocytogenes* outbreak clone linked to soft cheese in Northern Italy - 2009-2011. *BMC Infectious Diseases* 17:342
- ANSES (2011). Data sheet on foodborne biological hazards: "*Listeria monocytogenes*". Disponible via le lien suivant: <https://www.anses.fr/en/system/files/MIC2011sa0171Fi.pdf>
- Boon N., Uyttendaele M., Roume H. (2015). Projet d'étude AFSCA SP 2015-04 : Étude exploratoire relative à l'application de l'analyse métagénomique en tant qu'outil de surveillance de la sécurité alimentaire des fromages au lait cru à pâte molle. Disponible via le lien suivant: http://www.afsca.be/professionnels/publications/projetsdetude/documents/FAVVStudieprojectSP2015-04_metagenomicssamenvatting_V3_FR-1.pdf
- Bourry A., Poutrel B., Rocourt J. (1995). Bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*: characteristics of natural and experimental infections. *Journal of Medical Microbiology* 43, 125-132
- D'Amico D. J., Druart M. J., Donnelly C. W. (2008). 60-day aging requirement does not ensure safety of surface-mold-ripened soft cheeses manufactured from raw or pasteurized milk when *Listeria monocytogenes* is introduced as a postprocessing contaminant. *Journal of Food Protection* 71(8), 1563 - 1571
- EFSA, ECDC (2019). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal*. 17(12):5926
- EURL (2019). EURL Lm TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Version 3 – 6 June 2014 - Amendment 1 of 21 February 2019
- FAVV (2012). Guide d'autocontrôle pour la production et la vente de produits laitiers à la ferme. Disponible via le lien suivant: http://www.favv.be/autocontrole-fr/guides/distribution/g034/documents/G-034_V1_23-07-2012_Fr.pdf
- FDA (2013). Bad Bug Book. Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Disponible via le lien suivant: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf>.
- Fthenakis G.C., Saratsis Ph., Tzora A., Linde K. (1998) Naturally occurring subclinical ovine mastitis associated with *Listeria monocytogenes*. *Small Ruminant Research* 31, 23-27
- Gould L. H., Mungai E., Behravesh C. B., 2014. Outbreaks Attributed to Cheese: Differences Between Outbreaks Caused by Unpasteurized and Pasteurized Dairy Products, United States, 1998-2011. *Foodborne Pathogens and Disease* 11(7), 545-551.
- Goulet V., Hebert M., Hedberg C., Laurent E., Vaillant V., De Valk H., Desenclos J.-C. (2012). Incidence of Listeriosis and Related Mortality Among Groups at Risk of Acquiring Listeriosis, *Clinical Infectious Diseases*, 54 (5), 652–660.

HGR/SciCom (2016). Avis conjoint CSS N°9311 et SciCom 21-2016. Recommandations relatives à la problématique de la listériose chez les groupes cibles spécifiques et fragiles. Disponible via le lien suivant: http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/2016/_documents/Avis21-2016_SciCom2016-12_Listeriose_000.pdf

Jackson K.A., Gould L.H., Hunter J.C., Kucerova Z., Jackson B. (2018). Listeriosis outbreaks associated with soft cheeses, United States, 1998–2014. *Emerging Infectious Diseases* 24(6), 1116–1118

Jensen N.E., Aarestrup F.M., Jensen J., Wegener H.C. (1996). *Listeria monocytogenes* in bovine mastitis. Possible implication for human health. *International Journal of Food Microbiology* 32, 209-216

Lahou E., Uyttendaele M. (2017). Growth potential of *Listeria monocytogenes* in soft, semi-soft and semi-hard artisanal cheeses after post-processing contamination in deli retail establishments. *Food Control* 76, 13-23

McIntyre L., Wilcott L., Naus M. (2015). Listeriosis outbreaks in British Columbia, Canada, caused by soft ripened cheese contaminated from environmental sources. *BioMed Research International*, 2015:131623

SciCom (2016). Avis 02-2016 du Comité scientifique institué auprès l'AFSCA du 19 février 2016. Tests de provocation et tests de vieillissement pour *Listeria monocytogenes* dans le fromage (dossier SciCom 2015/17). Disponible via le lien suivant: http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/2016/_documents/Avis02-2016Listeriamonocytogenes_website_000.pdf

SciCom (2019). Avis 11-2019 du Comité scientifique institué auprès l'AFSCA du 21 juin 2019 sur le potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre de ferme au lait cru (dossier SciCom 2018/17). Disponible via le lien suivant: http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/2019/_documents/Avis11-2019_SciCom2018-17_listerialaitcrubeurre_000.pdf

Wemmenhove E., van Valenberg H.J.F., van Hooijdonk A.C.M., Wells-Bennik M.H.J., Zwietering M.H. (2018). Factors that inhibit growth of *Listeria monocytogenes* in nature-ripened Gouda cheese: a major role for undissociated lactic acid. *Food Control* 84, 413-418

Présentation du Comité scientifique institué auprès l'AFSCA

Le Comité scientifique (SciCom) est un organe consultatif institué auprès l'Agence fédérale belge pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire (AFSCA) qui rend des **avis scientifiques indépendants** en ce qui concerne l'évaluation et la gestion des risques dans la chaîne alimentaire, et ce sur demande de l'administrateur délégué de l'AFSCA, du ministre compétent pour la sécurité alimentaire ou de sa propre initiative. Le Comité scientifique est soutenu administrativement et scientifiquement par la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques de l'Agence alimentaire.

Le Comité scientifique est composé de 22 membres, nommés par arrêté royal sur base de leur expertise scientifique dans les domaines liés à la sécurité de la chaîne alimentaire. Lors de la préparation d'un avis, le Comité scientifique peut faire appel à des experts externes qui ne sont pas membres du Comité scientifique. Tout comme les membres du Comité scientifique, ceux-ci doivent être en mesure de travailler indépendamment et impartialement. Afin de garantir l'indépendance des avis, les conflits d'intérêts potentiels sont gérés en toute transparence.

Les avis sont basés sur une évaluation scientifique de la question. Ils expriment le point de vue du Comité scientifique qui est pris en consensus sur la base de l'évaluation des risques et des connaissances existantes sur le sujet.

Les avis du Comité scientifique peuvent contenir des **recommandations** pour la politique de contrôle de la chaîne alimentaire ou pour les parties concernées. Le suivi des recommandations pour la politique est la responsabilité des gestionnaires de risques.

Les questions relatives à un avis peuvent être adressées au secrétariat du Comité scientifique : Secretariat.SciCom@afsca.be

Membres du Comité scientifique

Le Comité scientifique est composé des membres suivants :

S. Bertrand^a, M. Buntinx, A. Clinquart, P. Delahaut, B. De Meulenaer, N. De Regge, S. De Saeger, J. Dewulf, L. De Zutter, M. Eeckhout, A. Geeraerd, L. Herman, P. Hoet, J. Mahillon, C. Saegerman, M.-L. Scippo, P. Spanoghe, N. Speybroeck, E. Thiry, T. van den Berg, F. Verheggen, P. Wattiau^b

Conflit d'intérêts

En raison d'un conflit d'intérêts, L. Herman n'a pas participé à la délibération lors de l'approbation de l'avis.

^a Jusqu'en mars 2018

^b Jusqu'en juin 2018

Remerciements

Le Comité scientifique remercie la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques et les membres du groupe de travail pour la préparation du projet d'avis. Le Comité scientifique souhaite également remercier J. Dewulf et T. van den Berg pour le 'deep reading' de l'avis.

Composition du groupe de travail

Le groupe de travail était composé de :

Membres du Comité scientifique :	L. De Zutter (rapporteur), A. Clinquart, A. Geeraerd
Experts externes :	V. Delcenserie (ULiège), M. Polet (Sciensano), M. Uyttendaele (UGent)
Gestionnaire du dossier :	K. Feys

Les activités du groupe de travail ont été suivies par les membres de l'administration suivants (comme observateurs) : V. Cantaert (AFSCA)

Cadre juridique

Loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, notamment l'article 8 ;

Arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Règlement d'ordre intérieur visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 8 juin 2017.

Disclaimer

Le Comité scientifique conserve à tout moment le droit de modifier cet avis si de nouvelles informations et données deviennent disponibles après la publication de cette version.

Annexe 1 : Critères de sécurité alimentaire pour *Listeria monocytogenes* d'après le Règlement (CE) N° 2073/2005

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes/toxines, métabolites	Plans d'échantillonnage ⁽¹⁾		Limites ⁽²⁾		Méthode d'analyse de référence ⁽³⁾	Stade d'application du critère
		n	c	m	M		
1.1 Denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées aux nourrissons et denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées à des fins médicales spéciales ⁽⁴⁾	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Absence dans 25 g		EN/ISO 11290-1	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.2 Denrées alimentaires prêtes à être consommées permettant le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc /g ⁽⁵⁾		EN/ISO 11290-2 ⁽⁶⁾	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
		5	0	Absence dans 25 g ⁽⁷⁾		EN/ISO 11290-1	Avant que la denrée alimentaire n'ait quitté le contrôle immédiat de l'opérateur qui l'a fabriquée.
1.3 Denrées alimentaires prêtes à être consommées ne permettant pas le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales ⁽⁴⁾ ⁽⁸⁾	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc /g		EN/ISO 11290-2 ⁽⁶⁾	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

⁽¹⁾ n = nombre d'unités constituant l'échantillon; c = nombre maximal de résultats pouvant présenter des valeurs comprises entre m et M, pour le nombre d'échantillons n réalisé.

⁽²⁾ Pour les points 1.1 à 1.3, m = M.

⁽³⁾ Il y a lieu d'utiliser l'édition la plus récente de la norme.

⁽⁴⁾ Des essais périodiques fondés sur ce critère ne sont pas utiles, en temps normal, pour les denrées alimentaires prêtes à être consommées suivantes :

- denrées alimentaires ayant fait l'objet d'un traitement thermique ou d'une autre transformation efficace pour éliminer *L. monocytogenes*, lorsque la recontamination n'est pas possible après ce traitement (par exemple les produits traités thermiquement dans leur emballage final),
- fruits et légumes frais, non découpés et non transformés, à l'exception des graines germées,
- pain, biscuits et produits similaires,
- eaux, boissons non alcoolisées, bière, cidre, vin, boissons spiritueuses en bouteille ou conditionnés et produits similaires,
- sucre, miel et confiserie, y compris les produits à base de cacao et de chocolat,
- mollusques bivalves vivants.

⁽⁵⁾ Ce critère est applicable lorsque le fabricant est en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant la durée de conservation. L'exploitant peut fixer, pendant le procédé, des valeurs intermédiaires suffisamment basses pour garantir que la limite de 100 ufc/g ne sera pas dépassée au terme de la durée de conservation.

⁽⁶⁾ 1 ml d'inoculum est déposé sur une boîte de Petri d'un diamètre de 140 mm ou sur trois boîtes de Petri d'un diamètre de 90 mm.

⁽⁷⁾ Ce critère est applicable aux produits avant qu'ils ne quittent le contrôle immédiat de l'exploitant du secteur alimentaire, lorsque celui-ci n'est pas en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant toute la durée de conservation.

⁽⁸⁾ Les produits pour lesquels $pH < 4,4$ ou $a_w < 0,92$, les produits pour lesquels $pH < 5,0$ et $a_w < 0,94$, les produits à durée de conservation inférieure à cinq jours appartiennent automatiquement à cette catégorie. D'autres catégories de produits peuvent aussi appartenir à cette catégorie, sous réserve d'une justification scientifique.