

AVIS 09-2016

Objet :

**Croissance de *Listeria monocytogenes* dans
le beurre fermier à base de lait cru**

(SciCom 2016/06)

Avis scientifique approuvé par le Comité scientifique le 20 mai 2016

Mots-clés :

Listeria monocytogenes, beurre fermier à base de lait cru, croissance, test de provocation, étude de vieillissement

Key terms :

Listeria monocytogenes, raw milk homestead butter, growth, challenge test, durability study

Table des matières

Résumé.....	3
Summary	4
1. Termes de référence	5
1.1. Question.....	5
1.2. Dispositions législatives	5
1.3. Méthodologie.....	5
2. Contexte	5
3. Évaluation des données fournies	6
3.1. Tests de provocation	7
3.2. Tests de vieillissement.....	9
3.3. Informations supplémentaires	12
4. Résultats du programme de contrôle de l'AFSCA	13
5. Étude de littérature concernant <i>Listeria monocytogenes</i> dans le beurre.....	13
6. Tests de provocation et tests de vieillissement de <i>Listeria monocytogenes</i> dans le beurre.....	16
7. Conclusion	17
8. Recommandations.....	17
Références	19
Membres du Comité scientifique.....	21
Conflit d'intérêts	21
Remerciement.....	21
Composition du groupe de travail.....	22
Cadre juridique.....	22
Disclaimer.....	22

Tableaux

Tableau 1. Critères de sécurité des denrées alimentaires pour <i>Listeria monocytogenes</i> suivant le Règlement (CE) N° 2073/2005.....	5
Tableau 2. Résultats d'une étude belge des tests de provocation de <i>Listeria monocytogenes</i> sur du beurre fermier à base de lait cru (sans addition de ferment ou de sel)	8
Tableau 3. <i>Listeria monocytogenes</i> dans le beurre fermier naturellement contaminé (onze lots de huit producteurs)	10
Tableau 4. Prédiction de la croissance de <i>Listeria monocytogenes</i> dans un milieu de laboratoire avec des caractéristiques conforme au beurre du lot 10 (un pH de 6,23 et une a_w de 0,980) après 4 jours de conservation à 7 °C	11

Figures

Figure 1. Intervalle de confiance de 68,2 % et 95,0 % entourant la prédiction du modèle du ComBase Predictor (sans phase de latence et basée sur l'incertitude associée avec le taux de croissance) de la croissance de <i>Listeria monocytogenes</i> dans un milieu de laboratoire avec des caractéristiques conforme au beurre du lot 10 (un pH de 6,23 et une a_w de 0,980) après 4 jours de conservation à 7 °C	12
---	----

Annexes

Annexe 1 : Résultats des études de vieillissement de <i>Listeria monocytogenes</i> dans le beurre fermier à base de lait cru pour la période 2014-2015 en Wallonie	23
Annexe 2 : Résultats du programme de contrôle de l'AFSCA relatifs à <i>Listeria monocytogenes</i> dans le beurre fermier à base de lait cru pour la période 2008-2015	24

Résumé

Avis 09-2016 du Comité scientifique sur la croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier à base de lait cru

Contexte & Question

Pour le beurre, il n'existe pas de preuve scientifique univoque qui démontre la possibilité de la croissance de *Listeria monocytogenes*. Une demande d'avis a été introduite auprès du Comité scientifique afin d'évaluer si *Listeria monocytogenes* se développe dans le beurre fermier à base de lait cru.

Méthodologie

Le Comité scientifique a évalué les études fournies relatives à *Listeria monocytogenes* dans le beurre ainsi que les résultats du programme de contrôle de l'AFSCA. De plus, des résultats provenant de la littérature scientifique internationale ont été évalués. Le Comité scientifique a ensuite effectué une estimation des risques sur base des résultats des études, du programme de contrôle et de la littérature scientifique ainsi que sur base de l'opinion d'experts. De plus, des recommandations sont formulées au sujet de la réalisation des tests de provocation et/ou des tests de vieillissement de *Listeria monocytogenes* dans le beurre afin d'assurer la sécurité alimentaire.

Résultats

Il existe une grande variation dans les processus de production et les types de beurre. La probabilité de croissance de *Listeria monocytogenes* est notamment dépendante de la force, de la vitesse et de la stabilité de l'acidification, et donc de la prévalence naturelle ou de l'addition de ferments, ainsi que de la teneur en sel (et de l' a_w) du beurre. Généralement, il ressort des études fournies que la probabilité de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre est plutôt nulle. Cependant, il ressort également des études fournies et de la littérature scientifique qu'il existe une grande variabilité dans les valeurs de pH et d' a_w des types de beurre fermier et que ces paramètres physico-chimiques peuvent varier au sein d'un même lot et continuer à évoluer pendant la conservation de ce lot. Les conditions *worst case* de la production et de la conservation du beurre fermier ne sont pas toujours couvertes par les études disponibles ou par la littérature scientifique pour évaluer le potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes*.

Conclusion

Le Comité scientifique conclut que le beurre fermier à base de lait cru est un produit présentant un faible risque concernant le potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* si des ferments naturels ou ajoutés assurent une acidification assez forte, rapide et stable (pendant toute la période de conservation) et/ou si le beurre a une valeur d' a_w suffisamment faible ou une teneur en sel suffisamment élevée. Cependant, compte tenu de la grande variabilité observée dans les processus de production et les types de beurre fermier, il n'est pas possible de faire une déclaration sur le potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans tous les types de beurre fermier en Belgique sur base des données disponibles. Par conséquent, le Comité scientifique ne peut pas équivoquement répondre à la question de savoir si la croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier à base de lait cru est possible. Il est donc recommandé de réaliser des recherches sur les valeurs limites de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier à base de lait cru sous diverses combinaisons de pH et d' a_w (ou de teneur en sel). Ceci doit être réalisé à l'aide de tests de provocation et/ou de tests de vieillissement en tenant compte des scénarios *worst case*. Si de telles conditions préalables sont fixées à partir de la production et sont maintenues jusqu'à la fin de la durée de conservation (sous les conditions d'une certaine combinaison de temps/température), on

peut statuer pour tous les types de beurre fermier se situant dans les limites de ces conditions préalables.

Summary

Advice 09-2016 of the Scientific Committee on the growth of *Listeria monocytogenes* in raw milk homestead butter

Background & Terms of reference

There is no clear scientific evidence if growth of *Listeria monocytogenes* is possible in butter. A request for advice has been submitted to the Scientific Committee to evaluate whether *Listeria monocytogenes* grows in raw milk homestead butter.

Methodology

The Scientific Committee has evaluated the provided studies concerning *Listeria monocytogenes* in butter, as well as the results of the control program of the FASFC. In addition, results from the international scientific literature were evaluated. Subsequently, the Scientific Committee has, based on the results from the studies, from the control program and from the scientific literature as well as based on expert opinion, made a risk estimation. Also, recommendations are made on performing challenge tests and/or durability tests for *Listeria monocytogenes* in butter in order to ensure the food safety.

Results

There exists a great variation in the production processes and the types of butter. The probability of growth of *Listeria monocytogenes* is primarily dependent on the strength, the speed and the stability of the acidification and consequently, on the natural occurrence or the addition of ferments as well as on the salt content (and the a_w) of the butter. In general, it appears from the supplied studies that the probability of growth of *Listeria monocytogenes* in butter is rather zero. However, from the submitted studies and the scientific literature it also seems that there exists a great variability in the pH and a_w values of the homestead butter and that these physicochemical parameters can vary within a batch and keep evolving during the storage of this batch. The worst case conditions of production and storage of homestead butter are not always covered by the available studies or by the scientific literature to assess the growth potential of *Listeria monocytogenes*.

Conclusion

The Scientific Committee concludes that raw milk homestead butter is a low risk product with regard to the growth potential of *Listeria monocytogenes* if natural or added ferments provide a sufficiently strong, fast and stable acidification (during the entire shelf-life period) and/or if the butter has a sufficiently low a_w value or high salt level. However, given the observed high variability in the production processes and the types of homestead butter, it is not possible to make a statement about the growth potential of *Listeria monocytogenes* in all types of homestead butter in Belgium based on the available data. Hence, the Scientific Committee cannot unambiguously answer the question if growth of *Listeria monocytogenes* in raw milk homestead butter is possible. Therefore, it is recommended to conduct research on the limits of growth of *Listeria monocytogenes* in raw milk homestead butter under various combinations of pH and a_w (or salt content). This should be realized with the aid of challenge tests and/or durability tests taking into account the worst case scenarios. If such conditions are set from the production and are maintained until the end of the shelf-life (under conditions of a specific time/temperature combination), a statement can be made for all types of homestead butter within the limits of those conditions.

1. Termes de référence

1.1. Question

Les questions suivantes ont été posées au Comité scientifique :

- Une croissance de *Listeria monocytogenes* est-elle possible dans le beurre fermier à base de lait cru ?
- Une étude de vieillissement est-elle suffisante pour démontrer ou non la possibilité de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier à base de lait cru ? Quelles sont les exigences spécifiques de ces études de vieillissement et pour quels types de beurre les résultats de ces tests sont-ils valables ?

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. Méthodologie

Le Comité scientifique a évalué les études fournies relatives à *Listeria monocytogenes* dans le beurre ainsi que les résultats du programme de contrôle de l'AFSCA. De plus, des résultats provenant de la littérature scientifique internationale ont été évalués. Le Comité scientifique a ensuite effectué une estimation des risques sur base des résultats des études, du programme de contrôle et de la littérature scientifique ainsi que sur base de l'opinion d'experts. De plus, des recommandations sont formulées au sujet de la réalisation des tests de provocation et/ou des tests de vieillissement de *Listeria monocytogenes* dans le beurre afin d'assurer la sécurité alimentaire.

Vu les discussions menées durant les réunions de groupe de travail des 3 mars 2016 et 25 avril 2016 et lors de la séance plénière du 20 mai 2016,

le Comité scientifique émet l'avis suivant :

2. Contexte

Le Règlement (CE) N° 2073/2005 de la Commission du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires¹ présente, entre autres, des critères microbiologiques relatifs aux denrées alimentaires prêtes à être consommées permettant le développement de *Listeria monocytogenes* (voir tableau 1).

¹ <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/fr/txt/pdf/?uri=CELEX:02005R2073-20140601&qid=144775099953&from=fr>

Tableau 1. Critères de sécurité des denrées alimentaires pour *Listeria monocytogenes* suivant le Règlement (CE) N° 2073/2005

Catégorie de denrées alimentaires	Plan d'échantillonnage ^a		Limites ^b		Stade d'application du critère
	n	c	m	M	
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	5	0	100 ufc/g ^c		Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
			Absence dans 25 g ^d		Avant que la denrée alimentaire n'ait quitté le contrôle immédiat de l'opérateur qui l'a fabriquée
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 ^e			100 ufc/g		Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

^a n = nombre d'unités constituant l'échantillon ; c = nombre d'unités d'échantillonnage donnant des valeurs comprises entre m et M.

^b Les limites m et M sont les valeurs entre lesquelles peut se trouver un certain nombre de sous-échantillons ('c') du nombre total de sous-échantillons composant l'échantillon ('n').

^c 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 toute 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.

^d 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.

^e Les produits avec un pH ≤ 4,4 ou une a_w ≤ 0,92, les produits avec un pH ≤ 5,0 et une a_w ≤ 0,94, les produits à durée de conservation inférieure à 5 jours appartiennent automatiquement à cette catégorie. D'autres genres de produits peuvent aussi appartenir à cette catégorie, sous réserve d'une justification scientifique.

En Belgique, il y a environ 380 producteurs de beurre fermier à base de lait cru. Il n'existe pas de preuve scientifique univoque qui démontre la possibilité ou non de la croissance de *Listeria monocytogenes* dans ce type de produit. Par précaution, lors des contrôles officiels effectués par l'AFSCA, on part du principe que le beurre fermier à base de lait cru peut permettre le développement de *Listeria monocytogenes* et par conséquent, on utilise le critère d'absence dans 25 grammes. Il est demandé au Comité scientifique d'évaluer si *Listeria monocytogenes* se développe dans le beurre fermier à base de lait cru. À cet effet, des résultats de tests de provocation et de tests de vieillissement ont été joints à la demande d'avis ainsi que des résultats du programme de contrôle de l'AFSCA.

3. Évaluation des données fournies

3.1. Tests de provocation

Lors d'une première étude réalisée dans un laboratoire en Belgique, des tests de provocation pour *Listeria monocytogenes* ont été réalisés au cours desquels trois types de production de beurre fermier ont été étudiés :

- "beurre 1" produit à la ferme et fourni au laboratoire tel quel après la production en vue d'une inoculation de *Listeria monocytogenes* directement après la production, donc au début de la durée de conservation
- "beurre 2" produit à l'échelle pilote dans le laboratoire à partir de la crème fournie par la ferme et dans lequel l'inoculation de *Listeria monocytogenes* a eu lieu après la production, donc au début de la durée de conservation
- "beurre 3" produit à l'échelle pilote dans le laboratoire à partir de la crème fournie par la ferme et pour lequel l'inoculation de *Listeria monocytogenes* a eu lieu dans la crème, afin de tenir compte du comportement de *Listeria monocytogenes* lors de la production (y compris tout stress qui peut y être associé)

Les tests de provocation ont été effectués sur ces trois types de beurre. Du beurre a été fabriqué sans ferment et sans sel afin de faciliter la croissance potentielle de *Listeria monocytogenes*. En outre, deux types de beurre blanc ont été analysés ("beurre a" provenant de la ferme et "beurre b" produit à l'échelle pilote). Les trois types de beurre ont été conservés pendant 21 jours : à 4 °C jusqu'à 1/3 de la durée de conservation (7 jours – T1/3), ensuite à 8 °C jusqu'à 2/3 de la durée de conservation (7 jours – T2/3) et ensuite à 21 °C jusqu'à la fin de la durée de conservation (7 jours – T3/3). L'échantillonnage a eu lieu en trois fois, peu après la production (T0), à T1/3, T2/3 et T3/3 et des dénombrements de *Listeria monocytogenes* ont été réalisés. Les résultats des tests de provocation se trouvent dans le tableau 2.

Tableau 2. Résultats d'une étude belge des tests de provocation de *Listeria monocytogenes* sur du beurre fermier à base de lait cru (sans addition de ferment ou de sel)

	Beurre 1		Beurre 2		Beurre 3		Beurre a	Beurre b
	<i>Listeria monocytogenes</i> (ufc/g)	pH	<i>Listeria monocytogenes</i> (ufc/g)	pH	<i>Listeria monocytogenes</i> (ufc/g)	pH	pH	pH
T0	40	5,70	10	5,65	30	5,30	6,45	5,85
T0	10	5,65	10	5,95	30	5,65	6,35	6,10
T0	10	6,45	10	5,35	30	5,95	6,45	5,65
T1/3	20		< 10		60			
T1/3	10		20		50			
T1/3	30		30		60			
T2/3	5*		6*		15*			
T2/3	5*		2*		14*			
T2/3	9,6*		7*		8*			
T3/3	7*	6,25	5*	5,75	8*	5,30	5,00	5,75
T3/3	2*	5,70	8*	5,20	11*	5,20	5,10	6,30
T3/3	10*	5,25	6*	5,50	5*	5,40	5,25	4,95

T0 : jour 0 peu après la production ; T1/3 : conservation à 4 °C jusqu'à 1/3 de la durée de conservation (7 jours) ; T2/3 : conservation supplémentaire à 8 °C jusqu'à 2/3 de la durée de conservation (7 jours) ; T3/3 : conservation supplémentaire à 21 °C jusqu'à la fin de la durée de conservation (7 jours).

*Analyse d'1 mL de suspension mère diluée à 10 mL (par ensemencement de 0,5 mL sur 20 plaques de Pétri d'un diamètre de 90 mm et additionner toutes les colonies suspectes sur les 20 plaques comme nombre de colonies par mL) à la place d'1 mL de suspension mère (via ensemencement de 0,3 mL (ou 0,4 mL) sur 3 plaques de Pétri d'un diamètre de 90 mm).

Il semble que dans ces tests de provocation spécifiques, une croissance de *Listeria monocytogenes* n'est pas possible dans le beurre. En outre, on ne remarque aucune différence dans le comportement de *Listeria monocytogenes* parmi les trois types de beurre inoculés de manière différente (que ce soit dans la crème pendant la production ou dans le beurre après la production).

Toutefois, le Comité scientifique remarque que le niveau de contamination initial au début de la durée de conservation ne s'élève pas toujours à 100 ufc/g. Dans l'[avis 02-2016](#) du Comité scientifique (SciCom, 2016), qui se base également sur le "EURL *Lm* technical guidance document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food²", il est stipulé que lors de la réalisation d'un test de provocation en vue d'estimer le potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* durant la durée de conservation, le laboratoire doit tendre vers un niveau de contamination initial d'environ 100 ufc/g, pour lequel le résultat de mesure se situera probablement entre 30 ufc/g et 300 ufc/g environ. Dans l'étude, le laboratoire est conscient de ce niveau de contamination initial trop bas. Afin de pouvoir rapporter pour ces échantillons les nombres estimés de *Listeria monocytogenes* pour des niveaux de contamination attendus faibles, la suspension mère à analyser a été diluée dix fois (désignée par un * dans le tableau 2). Le Comité scientifique se pose des questions concernant l'exactitude de cette approche et du calcul pour le dénombrement des nombres faibles. Conformément à l'[avis 02-2016](#) (SciCom, 2016), seuls les résultats des tests de provocation sur le beurre 3 sont valables puisque c'est le seul test de provocation pour lequel le niveau de contamination initial des trois échantillons se trouve entre 30 et 300 ufc/g.

Le Comité scientifique fait également remarquer qu'il existe une grande variabilité au sein des valeurs de pH du beurre en fonction des différentes productions malgré le fait que la crème provient de la même ferme et que le processus de production à l'échelle pilote a simulé celui de la ferme.

² http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/salmonella/docs/technical_guidance_listeria_en.pdf

Cette variation est aussi perceptible dans les évolutions du pH au cours de la conservation chez les trois répétitions d'un même beurre. Les valeurs de pH varient de 4,95 à 6,45 et sont parfois relativement élevées. On s'attend à ce que lors de la production et de la conservation du beurre, le pH diminue en raison de l'acidification de la crème qui découle de l'activité des ferments naturels, mais cela n'est pas toujours observé. Le pH du beurre 3 (avec l'inoculum d'environ 100 ufc/g) varie de 5,20 à 5,95. Dans cette étude, il semble que le beurre 3 ne représente cependant pas un scénario *worst case* en termes de pH. En effet, pour le beurre a et le beurre 1, on observe parfois des valeurs de pH plus élevées immédiatement après la production ($> \text{pH } 6,0$) que pour le beurre 3. Pour le beurre b et le beurre 2 en fin de durée de conservation, on observe également des valeurs de pH plus élevées ($> \text{pH } 6,0$) que pour le beurre 3. Aussi dans la deuxième étude fournie par les demandeurs d'avis (voir section 3.2.), on voit que le pH du beurre fermier peut aller jusqu'à 6,78. Par ailleurs, dans ces tests de provocation, ni l' a_w ni la teneur en sel du beurre ne sont données dans le rapport de ces tests alors qu'elles sont, conjointement avec le pH, un facteur déterminant de croissance pour *Listeria monocytogenes*. Le test du beurre 3 est donc un seul test de provocation et ne peut pas être considéré comme représentatif de tout le beurre fermier à base de lait cru en Belgique. Conformément à l'[avis 02-2016](#) (SciCom, 2016), au moins deux tests de provocation supplémentaires doivent être réalisés pour montrer l'absence de croissance de *Listeria monocytogenes* dans du beurre fermier à base de lait cru.

3.2. Tests de vieillissement

Dans une deuxième étude, des tests de vieillissement ont été réalisés sur des échantillons de beurre fermier à base de lait cru en Wallonie, au cours de la période 2014-2015. Il s'agit ici de lots dans lesquels *Listeria monocytogenes* a initialement été détectée par 25 grammes (la présence par 25 grammes avait été constatée pour au moins un échantillon sur cinq). Au total, onze lots de huit opérateurs ont été échantillonnés en dix fois (sous-unités d'un même lot), dont cinq échantillons ont été analysés peu après l'échantillonnage et les cinq autres à la fin de la durée de conservation (voir l'annexe 1). La durée de conservation du beurre fermier à base de lait cru est, selon le demandeur d'avis, de manière standard entre 21 et 28 jours (l'échantillonnage d'un lot après 102 jours est donc exceptionnel et se trouve en-dehors de la date de conservation réelle). La conservation pendant la période de conservation s'est partiellement déroulée à 7 °C (si conservé chez le producteur) et partiellement à 8 °C (si conservé au laboratoire). Des dénombrements de *Listeria monocytogenes* (avec une limite de détection de 10 ufc/g) ont été réalisés sur les échantillons à la fois sur les cinq sous-unités du lot prélevées au début de la durée de conservation et sur les cinq autres sous-unités du lot qui ont été conservées jusqu'à la fin de la durée de conservation. Les résultats des tests de vieillissement se trouvent à l'annexe 1.

On remarque à nouveau qu'il existe une grande variabilité au sein des différents types de beurre fermier en ce qui concerne la méthode de production (salé ou non, avec utilisation ou non de présures/ferments) et que cela se traduit aussi par des résultats différents pour les mesures du pH et de l' a_w . Une hétérogénéité a été observée dans les valeurs de ces paramètres physico-chimiques du beurre fermier, aussi bien après la production qu'après la conservation des échantillons. Le pH le plus faible est de 3,98 et le pH le plus élevé est de 6,78. L' a_w mesurée varie de 0,851 à 0,985. Selon le Règlement (CE) N° 2073/2005, les produits avec un $\text{pH} \leq 4,4$ ou une $a_w \leq 0,92$ et les produits avec un $\text{pH} \leq 5,0$ et une $a_w \leq 0,94$ sont classés dans la catégorie des denrées alimentaires qui ne permettent aucune croissance de *Listeria monocytogenes*. Les types de beurre avec de telles combinaisons de pH et d' a_w , qui par définition ne permettent aucune croissance, sont indiqués en gras dans l'annexe 1. Au début de la durée de conservation, on voit que sur les onze types de beurre, trois ne permettent par définition aucune croissance. Parmi ces trois types de beurre, il y en a deux qui ne permettent pas non plus par définition une croissance à la fin de la durée de conservation et un beurre pour lequel les analyses de pH et d' a_w n'ont pas été réalisées à la fin de la durée de conservation. De plus,

il y a un type de beurre qui permet par définition une croissance au début mais plus à la fin de la durée de conservation. Les autres types de beurre montrent des combinaisons de pH et d'a_w qui permettent par définition une croissance.

Étant donné que l'échantillonnage concerne plusieurs sous-unités au début et à la fin de la durée de conservation et sachant que la contamination par *Listeria monocytogenes* dans un lot peut être hétérogène, cinq sous-unités sont trop insuffisantes pour pouvoir statuer sur le potentiel de croissance avec une certitude suffisante. Des réflexions peuvent être faites sur l'ensemble des résultats récoltés repris à l'annexe 1. Une analyse des résultats se trouve dans le tableau 3.

Tableau 3. *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier naturellement contaminé (onze lots de huit producteurs)

<i>Listeria monocytogenes</i>	Première analyse (début de durée de conservation)	Deuxième analyse (fin de durée de conservation)	Valeur p du test χ^2
Nombre « présent dans 25 g »/nombre total	44/55	36/59	0,0268
Nombre « présent dans 25 g » en % (95 % IC)	80 (69-91)	61 (49-73)	
Nombre de « résultats dénombrables »/nombre total	8/46	10/47	0,6354
Nombre de « résultats dénombrables » en % (95 % IC)	17 (6-28)	21 (10-33)	

Pour les détections, un pourcentage **significativement plus bas** de résultats non conformes (proportion du nombre présent dans 25 g) est observé pour la deuxième analyse par rapport à la première analyse (valeur p 0,0268) avec un niveau de confiance de 95 %. Vu que la probabilité de détecter *Listeria monocytogenes* dans ces types de beurre fermier n'augmente pas de manière significative, cela indique indirectement que, globalement, *Listeria monocytogenes* est naturellement et occasionnellement présente dans ce beurre fermier et ne se développe généralement pas au cours de la durée de conservation. Pour les dénombrements, un pourcentage **non significativement plus élevé** de résultats non conformes (proportion du nombre de résultats dénombrables) est observé pour la deuxième analyse par rapport à la première analyse (valeur p 0,6354) avec un niveau de confiance de 95 %. Il convient de noter que pour la première analyse, quatre fois un dénombrement **n'a pas** été réalisé, alors que la détection montrait une présence de *Listeria monocytogenes* dans 25 g. Dans le cas *worst case*, la prévalence pour la première analyse est donc de 12/46 et est diminuée à 10/47 pour la deuxième analyse (et le résultat final reste un pourcentage non significativement plus bas de résultats dénombrables à la fin de la durée de conservation avec une valeur p de 0,5852). Ceci indique également que, globalement, *Listeria monocytogenes* est naturellement et occasionnellement présente dans ce beurre fermier et ne se développe généralement pas au cours de la durée de conservation.

Le Comité scientifique remarque que c'est une considération globale et que le beurre fermier n'est pas une population homogène. Il ressort de l'annexe 1 que parmi les types de beurre fermier il y a une forte variabilité dans la méthode de production (salé/non-salé, avec/sans ferments) et qu'il y a une hétérogénéité dans les valeurs de pH et d'a_w mesurées aussi bien après la production qu'après la conservation des échantillons. Il est donc bien possible que dans un cas individuel d'un beurre fermier, une croissance puisse quand-même avoir lieu, alors que dans cette étude ce n'est pas le cas.

Par exemple, faisant exception par rapport aux autres lots, le lot 7 était contaminé de manière relativement homogène au début de la durée de conservation, avec les cinq sous-unités positives pour *Listeria monocytogenes* et des nombres relativement élevés (entre 90 et 210 ufc/g), mais la combinaison du pH et de l' a_w ne permet par définition pas de croissance de *Listeria monocytogenes*. L'absence de croissance est également confirmée par les analyses à la fin de la durée de conservation où les cinq autres sous-unités étaient encore positives pour *Listeria monocytogenes* avec à nouveau les mêmes nombres (relativement élevés) (entre 80 et 360 ufc/g) comme au début de la durée de conservation. Le lot 7 n'était donc pas conforme au début de la durée de conservation et le reste aussi à la fin de durée de conservation, mais le risque n'augmente pas au cours de la conservation (pas de potentiel de croissance comme attendu par les paramètres physico-chimiques). Toutefois, si une telle contamination de *Listeria monocytogenes* survient dans un lot avec un pH plus élevé ou une a_w plus élevée qui permet théoriquement une croissance dans le beurre fermier, même une contamination plus faible peut donner suite à des nombres (relativement) élevés (non conformes) de *Listeria monocytogenes*.

À titre d'illustration, le tableau 4 donne une prédiction de la croissance de *Listeria monocytogenes* à un pH de 6,23 et à une a_w de 0,980 (comme le lot 10 de l'étude dans l'annexe 1) après 4 jours de conservation à 7 °C. Cette prédiction a été réalisée à l'aide du ComBase Predictor, un programme avec lequel on peut calculer sur base de modèles mathématiques le taux de croissance maximal et le temps de génération d'un micro-organisme en fonction de facteurs intrinsèques (comme le pH et l' a_w) et de facteurs extrinsèques (comme la température). Afin de reproduire un scénario *worst case*, il a été supposé lors de la simulation qu'il n'y avait pas de phase de latence. Ces prédictions sont basées sur des données dans des milieux de laboratoire (Buchanan & Phillips, 1990; Duh & Schaffner, 1993; Le Marc, 2001), corrigées pour le pH, l' a_w et la température, et ne proviennent donc pas du beurre.

Tableau 4. Prédiction de la croissance de *Listeria monocytogenes* dans un milieu de laboratoire avec des caractéristiques conforme au beurre du lot 10 (un pH de 6,23 et une a_w de 0,980) après 4 jours de conservation à 7 °C

	Augmentation (log ufc/g)
Après 1 jour	0,56
Après 2 jours	1,12
Après 3 jours	1,69
Après 4 jours	2,25

Il ressort de cette prédiction de modèle, que si une contamination par *Listeria monocytogenes* se produisait dans le lot 10, une croissance jusqu'à des nombres élevés pourrait se produire. Le fait que ceci n'est pas observé à la fin de la durée de conservation peut être dû à la contamination très hétérogène et faible du lot 10 (seulement dans une à trois des cinq sous-unités *Listeria monocytogenes* a été détectée et les nombres étaient de moins de 10 ufc/g). Afin d'avoir assez de confiance concernant le taux de contamination et donc le potentiel de croissance (ou l'absence de croissance), il est recommandé que plus de cinq (différentes) sous-unités soient analysées au début et à la fin de la durée de conservation (voir aussi les recommandations dans l'[avis 02-2016](#) du Comité scientifique (SciCom, 2016)).

Il est également clair que des prédictions de modèle du ComBase Predictor comme présentées dans le tableau 4 sont soumises à une incertitude. La figure 1 donne une indication de cette incertitude : les bandes montrent les prédictions de croissance de *Listeria monocytogenes* avec un intervalle de confiance de 95,0 % (la bande extérieure) et de 68,2 % (la bande intérieure).

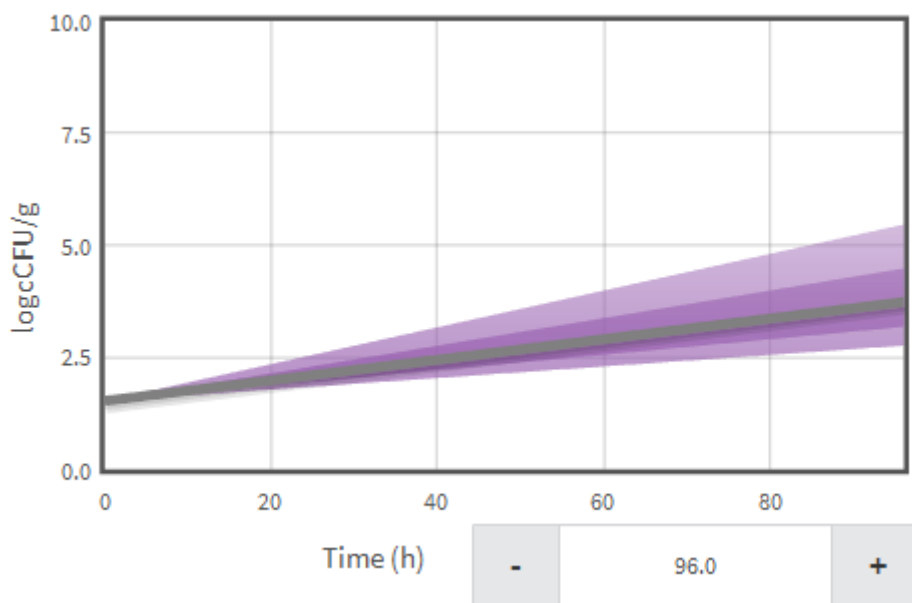


Figure 1. Intervalle de confiance de 68,2 % et 95,0 % entourant la prédiction du modèle du ComBase Predictor (sans phase de latence et basée sur l'incertitude associée avec le taux de croissance) de la croissance de *Listeria monocytogenes* dans un milieu de laboratoire avec des caractéristiques conforme au beurre du lot 10 (un pH de 6,23 et une a_w de 0,980) après 4 jours de conservation à 7 °C

L'incertitude entourant la prédiction du modèle, qui est basée sur des données provenant de milieux de laboratoire, est élevée et peut donner aussi bien une sous-estimation qu'une surestimation de la croissance réelle de *Listeria monocytogenes* parce que dans des milieux de laboratoire, tous les facteurs favorisant la croissance ou inhibant la croissance ne sont pas pris en compte alors qu'ils sont potentiellement présents dans les produits alimentaires tels que le beurre fermier. Il est donc recommandé de faire une validation à l'aide d'un test de provocation dans le beurre à base de lait cru dont le lot 10 représenterait un scénario *worst case* en termes de pH (6,23) et d' a_w (0,980).

3.3. Informations supplémentaires

Pendant une journée d'étude organisée par DiversiFerm en Belgique le 27 janvier 2016, Actalia, une institution de recherche technique pour soutenir le secteur alimentaire en France, a donné une présentation concernant des tests de provocation pour *Listeria monocytogenes* dans le beurre à base de lait cru ayant été réalisés dans leur institution de recherche (Actalia, 2016). Étant donné que le rapport complet de cette étude française n'avait pas été mis à disposition, le Comité scientifique n'a pu seulement faire qu'un certain nombre de déductions par rapport à la survie et à la croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre sur la base des figures reprises dans cette présentation.

Il s'agissait de productions pilotes, d'une part de beurre doux à base de lait cru, et d'autre part de beurre demi-sel à base de lait cru, au cours desquelles la crème avait subi chaque fois une inoculation de *Listeria monocytogenes* et où le comportement de *Listeria monocytogenes* avait chaque fois été suivi durant la période de production et de conservation. La production et l'inoculation ont été répétées six fois pour les deux types de beurre. Le pH de la crème s'élevait à environ 6,63. La teneur en sel du beurre demi-sel s'élevait à environ 1,85 %. Au début du processus de production, la crème a été chauffée jusqu'à 30 °C, avec ensuite inoculation de ferments et de *Listeria monocytogenes* (500 à 1.000 ufc/mL) et a par après été remise à 15 °C durant environ 10 heures. Puis, la crème a subi une maturation à froid à 4 °C durant environ 68 heures. Par la suite, la crème a été remise de nouveau à 15 °C et barattée, lavée, saumurée, mélangée et conditionnée ce qui a pris environ 8 heures. Pour le lot 1, on a observé une diminution claire du pH, d'environ 6,5 au

départ du processus de production jusqu'à environ 4,9 au début de la maturation à froid. Une diminution ultérieure du pH jusqu'à environ 4,6 a été observée 17 heures après le début du processus de production après quoi le pH est quasiment resté constant à environ 4,6 durant la suite de la production ainsi que la maturation (environ 4 jours). En moyenne, le pH du beurre doux variait entre 4,5 et 4,8 et celui du beurre demi-sel entre 4,3 et 4,7.

Lorsque l'on observe le comportement de *Listeria monocytogenes* durant la production, on remarque une légère hausse de *Listeria monocytogenes* passant initialement de 2,7 log ufc/mL à 3,2 log ufc/mL dans la crème durant la maturation à froid, avant le barattage. Par après, une forte diminution a lieu suite au barattage, lavage, saumurage et mélange. Dès le début de la durée de conservation (environ 4 jours après le début du processus de production), une diminution progressive a lieu jusqu'au moment où *Listeria monocytogenes* ne peut plus être détectée après 21 jours (= 2/3 de la durée de conservation). La présentation stipule que ces résultats ne peuvent pas être extrapolés à d'autres types de beurre étant donné qu'il faut tenir compte de la spécificité de la production. En effet, la méthode de production dans ce test n'est pas nécessairement représentative de la méthode de production employée par les 380 producteurs de beurre fermier à base de lait cru en Belgique. La forte diminution du pH qui est constatée dans cette étude est probablement la conséquence de l'utilisation de ferments lors de la production de ce beurre.

4. Résultats du programme de contrôle de l'AFSCA

Les résultats des dénombrements ou des détections de *Listeria monocytogenes* dans le beurre à base de lait cru dans le cadre du programme de contrôle de l'AFSCA sont disponibles pour la période allant de 2008 à 2015 et se trouvent à l'annexe 2. Les échantillons proviennent du secteur de la production primaire, de la transformation et de la distribution. Il s'agit donc de types de beurre à base de lait cru mais il ne s'agit pas toujours de types de beurre produits à la ferme. De plus, le contrôleur de l'AFSCA a décidé si un dénombrement ou une détection de *Listeria monocytogenes* a été réalisé, en fonction de la capacité ou non de l'opérateur à démontrer que *Listeria monocytogenes* ne peut pas dépasser la limite de 100 ufc/g à la fin de la durée de conservation. Conformément au Règlement (CE) N° 2073/2005, le critère de 100 ufc/g 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 toute la durée de conservation. Le critère d'absence dans 25 grammes 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. Toutefois, le nombre de jours suivant la production du beurre après lesquels les analyses ont été réalisées n'est pas connu pour ces données.

Au total, on trouve une prévalence de *Listeria monocytogenes* de 19,09 % sur 309 échantillons pour lesquels une détection a été réalisée (si le critère d'absence dans 25 g est utilisé) et une prévalence de *Listeria monocytogenes* de 0 % sur 880 échantillons pour lesquels un dénombrement a été réalisé (si le critère de 100 ufc/g est utilisé).

5. Étude de littérature concernant *Listeria monocytogenes* dans le beurre

Dans la littérature scientifique internationale, un seul foyer est rapporté suite à la consommation de beurre pasteurisé contaminé par *Listeria monocytogenes* (Lyytikäinen *et al.*, 2000; Maijala *et al.*, 2001). Le foyer est survenu en 1999 en Finlande et, parmi les 25 cas, 6 sont morts. Les cas étaient majoritairement immunodéficients et hospitalisés. Maijala *et al.* (2001) ont, suite à ce foyer, réalisé une étude d'exposition. Dans le cadre de cette étude, on a pu détecter *Listeria monocytogenes* dans 25 g au sein des 3 échantillons de beurre regroupés (10 conditionnements de 7g) en provenance de

la cuisine de l'établissement de soins. Parmi les 5 lots issus du commerce de gros avec des conditionnements de 7 g, 4 étaient positifs pour *Listeria monocytogenes* dans 25 g via des échantillons regroupés et 3 étaient positifs dans 1 g. Les échantillons de beurre positifs dataient de 13 à 120 jours. Les nombres de *Listeria monocytogenes* dans les conditionnements de 7 g étaient inférieurs à 2,0 log ufc/g et variaient de 0,8 à 1,8 log ufc/g (avec cependant un pic à 4,0 log ufc/g) ; dans les conditionnements de 10 g, de -0,8 à 2,5 log ufc/g ; et dans les conditionnements de 500 g, de 0,7 à 1,2 log ufc/g. Les échantillons des conditionnements de 7 g ont été regroupés et conservés à 6,5-7,2 °C, et ce jusqu'à 120 jours. Lors de la conservation des échantillons regroupés en provenance des conditionnements de 7 g, les nombres de *Listeria monocytogenes* variaient entre 4,3 et 5,1 log ufc/g. Dans les échantillons regroupés en provenance des conditionnements de 10 g, les nombres de *Listeria monocytogenes* avaient légèrement augmenté de 1,8 jusqu'à 2,9 log ufc/g. Une augmentation claire dans les nombres médians de *Listeria monocytogenes* au sein des échantillons regroupés en provenance des conditionnements de 500 g a été observée de 0,8 à 3,6 log ufc/g. La variation individuelle était cependant élevée, allant de 0,8 à 4,3 log ufc/g. Ceci montre donc que dans le beurre impliqué dans ce foyer en Finlande, une croissance de *Listeria monocytogenes* était occasionnellement possible au cours d'une conservation prolongée dans des conditions réfrigérées.

En 2005, un foyer de *Listeria monocytogenes* avait été rapporté en Suisse dans du fromage à pâte molle qui a mené à 10 cas, dont 8 étaient immunodéficients (3 sont morts) et 2 cas étaient des femmes enceintes (avec pour conséquence un avortement septique). Lors d'une étude plus approfondie dans l'exploitation de production, des nombres de *Listeria monocytogenes* dans le fromage allant de 1.000 à 10.000 ufc/g ont été enregistrés ainsi que des nombres allant de 10 à 100 ufc/g dans le beurre produit dans cette même exploitation (le type n'était pas mentionné). Aucun cas faisant suite à la consommation du beurre n'a été rapporté (Bille *et al.*, 2006).

Concernant la fréquence d'occurrence de *Listeria monocytogenes* dans le beurre, on trouve quelques publications dans la littérature scientifique. En 1987-1988, aucun échantillon de beurre positif à *Listeria monocytogenes* n'a été constaté sur un total de 20 échantillons à Bologne, *Listeria innocua* ayant cependant été détectée dans un échantillon. Le type de beurre n'a pas été spécifié (Massa *et al.*, 1990). En 2004, Lewis *et al.* (2006) ont testé 3.229 échantillons de beurre pour *Listeria* spp. qui provenaient de la production, du commerce de détail et du catering au Royaume-Uni et ont trouvé *Listeria monocytogenes* dans 0,4 % des échantillons, les nombres étaient cependant inférieurs à 10 ufc/g. Aucune information n'a été donnée sur le type de beurre. Les auteurs concluent que le beurre est un produit présentant un faible risque pour *Listeria monocytogenes*.

Dans les circuits courts en Belgique, *Listeria monocytogenes* a été détectée dans 160 des 616 échantillons de beurre analysés (e.a. du beurre fermier à base de lait cru). Dans 107 échantillons, les nombres étaient inférieurs à 10 ufc/g, dans 52 échantillons, ils se situaient entre 10 et 100 ufc/g et dans 1 échantillon, ils dépassaient 100 ufc/g (SciCom, 2014). Une étude menée par l'ILVO a mis en évidence que la prévalence de *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier en Belgique durant la période 2002-2008 oscillait entre 8 et 20 %. Cependant, dans aucun des échantillons de beurre positifs à *Listeria monocytogenes*, une concentration égale ou supérieure à 100 ufc/g n'a pu être détectée peu de temps après l'échantillonnage ou à la date de péremption. Les échantillons de beurre positifs avaient lors de la date de péremption un degré de contamination inférieur à 0,03 ufc/g, déterminé par la méthode du nombre le plus probable (De Reu *et al.*, 2008; De Reu *et al.*, 2007, 2006; De Reu & Herman, 2004). De plus, l'ILVO a fait en 2003-2004 en Belgique, un suivi de la survie de cet agent pathogène dans du beurre au lait cru contaminé artificiellement pendant 4 semaines. Aucune croissance significative n'a été observée aux différentes températures de conservation (4, 10 et 20 °C) pour les quatre niveaux de contamination évalués. La perte de viabilité de l'agent pathogène à 20 °C était significativement plus élevée par rapport à une conservation à 10 et 4 °C. La survie de *Listeria monocytogenes* a également été suivie dans huit échantillons de beurre

au lait cru contaminés naturellement avec un niveau de contamination initial allant de 0,23 à 15 ufc/g. Après une conservation entre 4 et 5 semaines à une température de 4 et 10 °C, les dénombrements de l'agent pathogène ont diminué et cette diminution était égale ou plus élevée lors d'une conservation à 10 °C par rapport à celle observée à 4 °C (De Reu *et al.*, 2008; De Reu *et al.*, 2007, 2006; De Reu & Herman, 2004). La teneur en sel et les valeurs de pH et d' a_w des échantillons de beurre examinés n'ont pas été données.

Au sujet de la croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre, on retrouve différents résultats dans la littérature scientifique. *Listeria monocytogenes* préfère (comme toutes les bactéries) la phase aqueuse à la phase adipeuse pour se développer (Olsen *et al.*, 1988). Olsen *et al.* (1988) ont découvert que *Listeria monocytogenes* pouvait se développer dans le beurre durant les premières semaines de conservation à 4-6 °C (jusqu'à 1,9 log ufc/g au-dessus du niveau de contamination initial), et avait ensuite une croissance plus lente durant quelques semaines. Après 6-8 semaines, les dénombrements les plus élevés ont été observés. À 13 °C, la croissance était plus rapide qu'à 4-6 °C et les dénombrements les plus élevés ont été retrouvés après 6-7 semaines et étaient 2,7 fois plus élevés que ceux observés à 4-6 °C. Les valeurs de pH et d' a_w des échantillons de beurre étudiés n'ont pas été mentionnées dans la publication.

Adler & Beuchat (2002) n'ont pas observé de croissance dans des types de beurre non salé avec ou sans ail lorsque ceux-ci avaient été conservés à 4,4 °C, 21 °C ou 37 °C durant 48 heures. Les valeurs de pH et d' a_w des échantillons de beurre examinés n'ont pas été mentionnées dans la publication.

Holliday *et al.* (2003) ont réalisé une inoculation de *Listeria monocytogenes* sur la surface de différents types de beurre et la croissance durant la conservation à 4,4 °C et à 21 °C a été suivie pendant 21 jours. Sur du beurre salé à base de crème fouettée sucrée (pH 6,40), *Listeria monocytogenes* était en mesure de se développer aussi bien à 4,4 °C qu'à 21 °C. À 4,4 °C, une réduction des dénombrements a d'abord eu lieu passant initialement de 5,6 log ufc/g au jour 0 à 4,7 log ufc/g au jour 7, suivie à nouveau d'une augmentation jusqu'à 5,8 log ufc/g au jour 14 et jusqu'à 6,3 log ufc/g au jour 21. À 21 °C, une augmentation a eu lieu passant de 5,6 log ufc/g initialement à 6,6 log ufc/g au jour 3. Sur du beurre non salé à base de crème fouettée sucrée (pH 4,51), du beurre *light* salé (pH 4,58), des matières grasses à tartiner (pH 4,05 et 5,37) et de la margarine *light* (pH 5,34), aucune croissance n'a été observée durant 21 jours à 4,4 °C ou à 21 °C. Une inactivation plus rapide a eu lieu à 21 °C plutôt qu'à 4,4 °C et lorsque des conservateurs ou des correcteurs d'acidité ont été ajoutés.

Lanciotti *et al.* (1992) ont trouvé que *Listeria monocytogenes* pouvait se développer dans du beurre *light* conservé soit à 4 °C soit à 20 °C. Le taux de croissance maximal s'élevait environ à 0,1 log ufc/g/jour aussi bien à 4 °C qu'à 20 °C.

Voysey *et al.* (2009) ont également étudié la croissance de *Listeria monocytogenes* dans du beurre à base de crème pasteurisée. La croissance était plus rapide dans du beurre cru que dans du beurre fin et du beurre sans sel. La croissance était similaire à 8°C et à 21°C. La densité cellulaire maximale a été atteinte après 14 jours.

En résumé, on peut affirmer que les résultats de la littérature scientifique sont variables. Parfois une croissance est possible et parfois une croissance n'est pas possible. Cependant, il n'est pas toujours mentionné de quel type de beurre il s'agit et souvent les caractéristiques physico-chimiques ne sont pas mentionnées.

6. Tests de provocation et tests de vieillissement de *Listeria monocytogenes* dans le beurre

Il ressort de l'évaluation des données fournies et de l'étude de littérature réalisée que, globalement, la probabilité de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier à base de lait cru est faible. Malgré cela, une croissance de *Listeria monocytogenes* dans du beurre fermier produit à base de lait cru en Belgique, présentant de grandes variations de production, et donc, présentant des différences au niveau des caractéristiques physico-chimiques (valeurs de pH et d' a_w) ne peut pas être exclue. Si l'on souhaite obtenir plus de certitude quant à la croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier à base de lait cru, on peut réaliser des tests de provocation et/ou des tests de vieillissement de *Listeria monocytogenes* dans le beurre.

Des tests de provocation sont préférablement réalisés à l'échelle pilote et dans le cadre desquels le lait ou la crème est inoculé(e). En effet, le beurre est une émulsion de gouttelettes aqueuses dans les matières grasses du lait, et les bactéries telles que *Listeria monocytogenes* se développeront seulement dans la fraction aqueuse. Lors d'une inoculation du beurre après le processus de production, il n'est pas évident de mettre en contact le germe pathogène avec la fraction aqueuse. Quand l'inoculation de *Listeria monocytogenes* se fait dans le lait/la crème, elle se retrouvera dans la fraction aqueuse du beurre où l'impact du pH et de l' a_w dans ces gouttelettes aqueuses est également déterminant pour la possibilité ou non d'une croissance. Le niveau de contamination initial après la production du beurre (et après la maturation) au jour 0 de la durée de conservation (le moment où le beurre est considéré comme prêt à être mis sur le marché) doit être d'environ 100 ufc par gramme de beurre. Des tests de provocation doivent être réalisés dans des conditions *worst case* pour le pH et l' a_w qui ont été observés et qui sont représentatifs pour le beurre fermier à base de lait cru en Belgique.

Des tests de vieillissement doivent être réalisés avec du beurre fermier bien caractérisé (avec un processus de production connu, un pH connu et une a_w connue, une teneur en sel connue et une durée de conservation connue) où il a été montré que *Listeria monocytogenes* était présente. S'il s'agit d'une contamination hétérogène avec des nombres très faibles (p. ex. comme mentionné dans la section 3.2. pour le lot 10 à l'annexe 1), il est recommandé que plus de cinq différentes sous-unités soient analysées au début et à la fin de la durée de conservation afin d'avoir assez de confiance concernant le taux de contamination et donc le potentiel de croissance (ou l'absence de croissance).

Les directives pour la réalisation des tests de provocation et/ou des tests de vieillissement pour *Listeria monocytogenes* se trouvent dans le "EURL *Lm* technical guidance document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food²" du laboratoire européen de référence pour *Listeria monocytogenes* (EURL *Lm*). De plus, le Comité scientifique a émis un avis sur les tests de provocation et tests de vieillissement pour *Listeria monocytogenes* dans le fromage (SciCom, 2016). Les exigences mentionnées dans cet avis sont également valables pour le beurre.

Dans le cas des tests de provocation qui ont été discutés dans la section 3.1., seul le test de provocation réalisé sur le beurre 3 est valable selon les directives mentionnées ci-dessus. Vu que ce beurre ne représente pas un scénario *worst case* par rapport au pH et à l' a_w et vu qu'il existe une grande variabilité dans les valeurs de pH et d' a_w , il est nécessaire que pour un tel beurre, deux tests de provocation supplémentaires soient réalisés sur des types de beurre ayant des valeurs de pH et d' a_w qui soient davantage *worst case* et qui soient donc plus représentatifs de l'ensemble de la gamme des types de beurre fermier à base de lait cru qui sont mis sur le marché en Belgique.

7. Conclusion

Les études fournies (tests de provocation et tests de vieillissement) ne donnent actuellement pas une garantie suffisante que pour affirmer que, pour l'ensemble des types de beurre fermier à base de lait cru en Belgique et en cas d'une contamination occasionnelle de *Listeria monocytogenes*, une croissance ne se produira jamais jusqu'à des nombres supérieurs à 100 ufc/g à la fin de la durée de conservation. En effet, à partir des études fournies, il ressort qu'une grande variabilité existe dans la manière de produire du beurre fermier à base de lait cru en Belgique et que les valeurs de pH et d' a_w du beurre fermier varient au sein même d'un lot mais évoluent également au cours de la conservation (parfois il y a une acidification, mais parfois il y a une augmentation des valeurs de pH).

Il existe une grande variation dans les processus de production et les types de beurre. La probabilité de croissance de *Listeria monocytogenes* est notamment dépendante de la force, de la vitesse et de la stabilité de l'acidification, et donc de la prévalence naturelle ou de l'addition de ferments, ainsi que de la teneur en sel (ou de l' a_w) du beurre.

En Europe, il y a eu par le passé un seul foyer confirmé faisant suite à la consommation de beurre contaminé par *Listeria monocytogenes*. La littérature scientifique comprend un certain nombre d'études relatives à la croissance potentielle de *Listeria monocytogenes* dans le beurre mais qui ont des protocoles expérimentaux variables en ce qui concerne les conditions de la durée et de la température de conservation, les types de beurre, etc. Les résultats sont dès lors très variables et une croissance n'est donc pas à exclure. Si des ferments sont ajoutés en vue d'une acidification rapide et contrôlée du beurre, il s'avère que *Listeria monocytogenes* ne se développe pas et disparaît même progressivement. Cependant, il ressort des données fournies que pour le beurre fermier en Belgique, l'acidification n'est pas toujours bien contrôlée et par conséquent, le pH et l' a_w du beurre connaissent une grande variation. Les valeurs mesurées varient aussi pour les sous-unités d'un même lot qui est analysé au début et à la fin de la durée de conservation.

Le Comité scientifique conclut que le beurre fermier à base de lait cru est un produit présentant un faible risque concernant le potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* si des ferments naturels ou ajoutés assurent une acidification assez forte, rapide et stable (pendant toute la période de conservation) et/ou si le beurre a une valeur d' a_w suffisamment faible ou une teneur en sel suffisamment élevée.

8. Recommandations

Le Comité scientifique recommande aux producteurs de produits laitiers fermiers d'utiliser de préférence, au cours de la production du beurre fermier à base de lait cru, des ferments qui permettent une acidification suffisamment rapide pendant le processus de production et qui garantissent un pH suffisamment faible du produit final au cours de la période de conservation, ce qui réduira considérablement la probabilité de croissance de *Listeria monocytogenes*.

Finalement, il est recommandé de réaliser des recherches sur les valeurs limites de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier à base de lait cru sous diverses combinaisons de pH et d' a_w (ou de teneur en sel). Ceci doit être réalisé à l'aide de tests de provocation et/ou de tests de vieillissement en tenant compte des scénarios *worst case*. Si de telles conditions préalables sont fixées à partir de la production et sont maintenues jusqu'à la fin de la durée de conservation (sous les conditions d'une certaine combinaison de temps/température), on peut statuer pour tous les types de beurre fermier se situant dans les limites de ces conditions préalables.

Pour le Comité scientifique,
Le Président,

Prof. Dr. E. Thiry (Sé.)
Bruxelles, le 26/05/2016

Références

Actalia, 2016. Challenge-test sur *Listeria monocytogenes* : L'exemple concret du beurre au lait cru. <http://www.actalia.eu/challenge-test/>.

Adler, B. B., Beuchat, L. R., 2002. Death of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* in Garlic Butter as Affected by Storage Temperature. *Journal of Food Protection* 65(12), 1976-1980.

Bille, J., Blanc, D. S., Schmid, H., Boubaker, K., Baumgartner, A., Siegrist, H. H., Tritten, M. L., Lienhard, R., Berner, D., Anderau, R., Treboux, M., Ducommun, J. M., Malinverni, R., Genné, D., Erard, P., Waespi, U., 2006. Outbreak of human listeriosis associated with tome cheese in northwest Switzerland, 2005. *Eurosurveillance* 11(6), 633.

Buchanan, R. L., Phillips, J. G., 1990. Response surface model for predicting the effects of temperature, pH, sodium chloride content, sodium nitrite concentration and atmosphere on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection* 53, 370-376.

De Reu, K., Herman, L., De Ville, W., 2008. Rapport 2008 'Aanwezigheid en aantallen van *Listeria monocytogenes* in Belgische hoeveboter'. Rapport *Listeria* in hoeveboter, ILVO-T&V.

De Reu, K., Herman, L., De Boosere, I., De Ville, W., 2007. Rapport 2007 'Aanwezigheid en aantallen van *Listeria monocytogenes* in Belgische hoeveboter'. Rapport *Listeria* in hoeveboter, ILVO-T&V.

De Reu, K., Herman, L., De Boosere, I., De Ville, W., 2006. Rapport 2006 'Aanwezigheid en aantallen van *Listeria monocytogenes* in Belgische hoeveboter'. Rapport *Listeria* in hoeveboter, ILVO-T&V.

De Reu, K., Herman, L., 2004. Rapport 2003-2004 'Aanwezigheid en overleving van *Listeria monocytogenes* in rauwmelkse hoeveboter'. ILVO-T&V.

Duh, Y. H., Schaffner, D. W., 1993. Modelling the effect of temperature on the growth rate and lag time of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection* 56, 205-210.

Holliday, S. L., Adler, B. B., Beuchat, L. R., 2003. Viability of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* in butter, yellow fat spreads, and margarine as affected by temperature and physical abuse. *Food Microbiology* 20, 159-168.

Lanciotti, R., Massa, S., Guerzoni, M. E., Di Fabio, G., 1992. Light butter: natural microbial population and potential growth of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica*. *Letters in Applied Microbiology* 15, 256-258.

Le Marc, Y., 2001. Developpement d'un modele modulaire decrivant l'effet des interactions entre les facteurs environnementaux sur les aptitudes de croissance de *Listeria*. These de doctorat. Université de Bretagne Occidentale, France.

Lewis, H. C., Little, C. L., Elson, R., Greenwood, M., Grant, K. A., McLauchlin, J., 2006. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and Other *Listeria* Species in Butter from United Kingdom Production, Retail, and Catering Premises. *Journal of Food Protection* 69(7), 1518-1526.

Lyytikäinen, O., Autio, T., Maijala, R., Ruutu, P., Honkanen-Buzalski, T., Miettinen, M., Hatakka, M., Mikkola, J., Anttila, V.-J., Johansson, T., Rantala, L., Aalto, T., Korkeala, H., Siitonen, A., 2000. An Outbreak of *Listeria Monocytogenes* Serotype 3a Infections from Butter in Finland. JID 181.

Maijala, R., Lyytikäinen, O., Johansson, T., Autio, T., Aalto, T., Haavisto, L., Honkanen-Buzalski, T., 2001. Exposure of *Listeria monocytogenes* within an epidemic caused by butter in Finland. International Journal of Food Microbiology 70, 97-109.

Massa, S., Cesaroni, D., Poda, G., Trovatielli, L. D., 1990. The incidence of *Listeria* spp. in soft cheeses, butter and raw milk in the province of Bologna. Journal of Applied Bacteriology 68, 153-156.

Olsen, J. A., Yousef, A. E., Marth, E. H., 1998. Growth and survival of *Listeria monocytogenes* during making and storage of butter. Milchwissenschaft 43, 487-489.

SciCom, 2016. Avis 02-2016 sur des tests de provocation et tests de vieillissement pour *Listeria monocytogenes* dans le fromage (dossier SciCom 2015/17). Disponible en ligne : http://www.favv-afsca.fgov.be/comitescientifique/avis/2016/ documents/Avis02-2016Listeriamonocytogenes_website.pdf.

SciCom, 2014. Avis 05-2014 sur la sécurité alimentaire des circuits courts (dossier SciCom 2013/01: auto-saisine). Disponible en ligne : http://www.favv-afsca.fgov.be/comitescientifique/avis/2014/ documents/AVIS05-2014_FR_DOSSIER2013-01_website_000.pdf.

Voysey, P. A., Anslow, P. A., Bridgwater, K. J., Lavender, B., Watson, L., 2009. The effects of butter characteristics on the growth of *Listeria monocytogenes*. International Journal of Dairy Technology 62(3), 326-330.

Présentation du Comité scientifique de l'AFSCA

Le Comité scientifique est un organe consultatif de 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 :

D. Berkvens, A. Clinquart, G. Daube, P. Delahaut, B. De Meulenaer, S. De Saeger, L. De Zutter, J. Dewulf, P. Gustin, L. Herman, P. Hoet, H. Imberechts, A. Legrève, C. Matthys, C. Saegerman, M.-L. Scippo, M. Sindic, N. Speybroeck, W. Steurbaut, E. Thiry, M. Uyttendaele, T. van den Berg

Conflit d'intérêts

En raison d'un conflit d'intérêts, G. Daube et M. Sindic n'ont pas participé à la délibération lors de l'approbation de l'avis.

Remerciement

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.

Composition du groupe de travail

Le groupe de travail était composé de:

Membres du Comité scientifique :	M. Uyttendaele (rapporteur), L. Herman, L. De Zutter
Experts externes:	V. Delcenserie (ULg), A. Geeraerd (KUL), M. Polet (ISP-LNR)
Gestionnaire du dossier:	C. Verraes

Les activités du groupe de travail ont été suivies par le membre de l'administration suivant (comme observateur): 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 9 juin 2011.

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 : Résultats des études de vieillissement de *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier à base de lait cru pour la période 2014-2015 en Wallonie

Producteur	Lot	Salé	Ferments	Première analyse				Deuxième analyse				pH	a _w
				Jour	Détection <i>Listeria monocytogenes</i> dans 25 g (nombre positif/nombre total)	Dénombrement <i>Listeria monocytogenes</i> en ufc/g (nombre/nombre total)	pH	a _w	Jour	Détection <i>Listeria monocytogenes</i> dans 25 g (nombre positif/nombre total)	Dénombrement <i>Listeria monocytogenes</i> en ufc/g (nombre/nombre total)		
1	1	oui	non	2	5/5	10 (1/5); < 10 (4/5)	4,83	0,970	21	5/5	< 10 (5/5)	4,94	0,983
1	2	non	non	1	1/5	< 10 (1/5); / (4/5)	4,96	0,972	28	0/5	/ (5/5)	4,76	0,951
1	3	non	non	1	5/5	< 10 (5/5)	-	-	21	3/5	< 10 (5/5)	5,07	0,927
2	4	oui	oui	1	5/5	< 10 (1/5); / (4/5)	-	-	102	8/10	10 (2/10); < 10 (6/10); / (2/10)	-	-
3	5	oui	oui	3	5/5	10 (1/5); < 10 (4/5)	3,98	0,958	21	4/5	10 (1/5); < 10 (4/5)	4,71	0,851
4	6	-	non	1	5/5	10 (1/5); < 10 (4/5)	5,36	0,911	24	4/4	< 10 (4/4)	-	-
5	7	-	non	2 à 8	5/5	150, 210, 90, 170, 130	5,05	0,926	21 à 27	5/5	110, 330, 360, 80, 100	5,40	0,902
6	8	-	non	2 à 7	2/5	< 10 (5/5)	4,66	0,985	21	0/5	/ (5/5)	4,54	0,970
3	9	oui	non	1	3/5	< 10 (5/5)	4,12	0,950	21	1/5	< 10 (5/5)	4,53	0,940
7	10	non	non	0	3/5	< 10 (4/5); / (1/5)	4,77	0,980	21	1/5	< 10 (5/5)	6,23	0,980
8	11	oui	non	13	5/5	< 10 (5/5)	6,78	-	22	5/5	10 (2/5); < 10 (3/5)	5,56	-

/ = pas de dénombrement réalisé.

Annexe 2 : Résultats du programme de contrôle de l'AFSCA relatifs à *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier à base de lait cru pour la période 2008-2015

	Détection			Dénombrement			Résultat dénombrable (10-100 ufc/g)	Total
	Présent dans 25 g	Absent dans 25 g	Total	< 10 ufc/g	< 40 ufc/g	< 100 ufc/g		
2008				195	2	2	5	204
2009				176	2	5	2	185
2010	4	43	47	102	1	13		116
2011	1	24	25	94	1	8		103
2012	8	38	46	83		9		92
2013	4	15	19	98	2	9		109
2014	30	102	132	13		1		14
2015	12	28	40	53		4		57
Total	59	250	309	814	8	51	7	880

Les résultats dénombrables étaient de 10, 10, 20, 20 et 25 ufc/g en 2008 et 10 et 10 ufc/g en 2009.