

AVIS 03-2022

Objet :

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

(SciCom 2021/16)

Avis scientifique approuvé par le Comité scientifique le 28 janvier 2022.

Mots-clés :

Listeria monocytogenes, beurre de ferme au lait cru, croissance, étude de provocation

Key terms:

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

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. Contexte/Introduction	8
3.1 <i>Listeria monocytogenes</i>	8
3.2 Beurre.....	8
3.3 Contexte de la demande d'avis.....	9
4. Avis	10
4.1 Évaluation du complément d'information sur le potentiel de croissance de <i>Listeria monocytogenes</i> dans le beurre au lait cru	10
4.2 Maîtrise de <i>L. monocytogenes</i> au cours du processus de production des beurres au lait cru	11
4.3 Réponse aux termes de référence sur le point de contrôle critique du processus de production des beurres au lait cru.....	12
4.4 Classification des produits selon le Règlement (CE) No 2073/2005.....	13
4.5 Réponse aux termes de référence sur la classification des beurres de lait cru (pH < 5,2) selon Règlement (CE) No 2073/2005	13
5. Incertitudes	14
6. Conclusions	14
7. Recommandations	15
Références	17
Membres du Comité scientifique.....	19
Conflit d'intérêts	19
Remerciements	20
Composition du groupe de travail.....	20
Cadre juridique.....	20
Disclaimer	20
Annexe 1 : Critères de sécurité alimentaire pour <i>Listeria monocytogenes</i> d'après le Règlement (CE) N° 2073/2005.....	21

Résumé

Avis 03-2022 du Comité scientifique institué auprès de l'AFSCA sur le potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre au lait cru

Contexte & Question

Dans l'avis 11-2019, le Comité scientifique a proposé d'inclure dans le plan HACCP le contrôle du pH durant le processus de production (étape de maturation de la crème) du beurre de ferme au lait cru. Le Comité scientifique considère que la croissance de *Listeria monocytogenes* pendant l'étape de maturation est faible si la valeur de pH chute en-dessous de 5,2 pendant les 10 premières heures du processus de fabrication. Cependant, la croissance de *L. monocytogenes* à des pH plus élevés dans le produit fini (> 5,2) ne peut pas être totalement exclue. Il a été demandé au Comité scientifique, sur base de nouvelles données scientifiques de réévaluer le CCP du contrôle de l'acidification.

Il a aussi été demandé d'évaluer la classification du beurre au lait cru ayant un pH inférieur à 5,2 selon le règlement (CE) N° 2073/2005.

Méthode

L'avis repose sur des nouvelles connaissances et données scientifiques disponibles et sur l'opinion d'experts.

Résultats

Les résultats de l'étude scientifique fournie ont montré une possible croissance de *L. monocytogenes* durant l'étape de maturation de la crème durant le processus de production du beurre. Les résultats montraient une augmentation allant de 1,8 à 3,1 log cfu/g du nombre de *L. monocytogenes* entre le début et la fin de la maturation de la crème. Les dénombrements réalisés durant la conservation du beurre ne montraient pas de croissance mais ils conservaient des valeurs supérieures aux seuils recommandés (<100 cfu/g) et ce jusqu'à 21 jours après le début de la conservation.

Les résultats sur la durée d'acidification pour atteindre le pH de 5,2 ont montré que si la maturation de la crème était effectuée à l'aide de ferments et en suivant les recommandations des fournisseurs concernant la température, l'acidification pouvait être réalisée entre 11 et 14 heures contre plus de 50 heures si aucun ferment n'était utilisé.

Conclusions

Sur la base des données disponibles, le Comité scientifique constate que le processus de production du beurre au lait cru présente des risques de croissance de *L. monocytogenes* car on ne peut exclure la présence de ce pathogène dans le lait cru. Il est important d'appliquer un bon plan HACCP. Concernant la modification du CCP sur le contrôle de l'acidification, le Comité scientifique propose l'adaptation suivante : atteindre un pH inférieur ou égal à 5,2 dans la crème maturée au plus tard 14

heures après le début de la maturation. Le Comité scientifique propose qu'en suivant les BPF et les recommandation du plan HACCP (avec le CCP proposé) et donc en ayant une acidification suffisamment rapide et mesurée de la crème, le beurre produit à partir de lait cru avec un pH < 5,2 peut éventuellement être considéré comme produit de catégorie 1.3 du Règlement (CE) No 2073/2005.

Recommandations

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

- Inclure l'utilisation systématique de ferments dans le processus de production des beurres au lait cru afin de garantir une acidification rapide de la crème et de limiter la croissance potentielle de *L. monocytogenes*.
 - Le CCP suivant est proposé pour le processus de production du beurre au lait cru : pH de la crème maturée < 5,2 ; au plus tard 14 heures après le début de la maturation ; en utilisant une température > 20°C et avec l'utilisation d'un ferment approprié. La détermination du pH doit être effectuée de manière rigoureuse pour chaque lot et la valeur mesurée doit être précise au dixième d'unité (0,1).
 - Il est recommandé d'effectuer régulièrement des analyses pour *L. monocytogenes* sur les beurres au lait cru avant leur mise sur le marché.
 - Le Comité scientifique est conscient que les recommandations de cet avis entraîneront peut-être des adaptations au niveau des méthodes de production dans les exploitations. Dans ce contexte, il est important de correctement conseiller les exploitations laitières.
 - Continuer la communication avec le consommateur et la sensibilisation des consommateurs à risque. En outre, il est recommandé aux opérateurs d'informer davantage le consommateur sur les risques possibles liés aux produits à base de lait cru, par exemple en mettant à disposition la brochure d'information du Comité scientifique sur le lait cru (SciCom, 2014).
-

Summary

Opinion 03-2022 of the scientific Committee established at the FASFC on the growth potential of *Listeria monocytogenes* in raw milk butter

Background & Terms of reference

In Opinion 11-2019, the Scientific Committee proposed to include in the Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) plan the pH control during the manufacturing process (cream maturation stage) of raw milk homestead butter. The Scientific Committee considered that the growth of *Listeria monocytogenes* during the maturation stage product was low if the pH value dropped below 5,2 during the first 10 hours of the manufacturing process. However, growth of *L. monocytogenes* at higher pH values in the finished product (> 5,2) could not be excluded.

In this opinion, the Scientific Committee has been asked, based on new scientific data, to re-evaluate the critical control point (CCP) of the pH control.

The Scientific Committee has also been asked to evaluate the classification of raw milk butter with a pH lower than 5,2 according to Regulation (EC) No. 2073/2005.

Method

This opinion is based on new available scientific knowledge and data, and on expert opinion.

Results

Results of the provided scientific study showed possible growth of *L. monocytogenes* during the cream maturation stage of the butter manufacturing process. Results demonstrated an increase of 1,8 to 3,1 log cfu/g in the number of *L. monocytogenes* between the beginning and the end of the cream maturation process. Counts during storage of the butter did not show an increase but remained above the recommended thresholds (<100 cfu/g) until 21 days after the start of shelf-life.

Results showed that when cream maturation was performed with ferments and following supplier's recommendations, acidification to pH 5,2 could be achieved in 11 to 14 hours whereas the same acidification required more than 50 hours if no ferment was used.

Conclusions

Based on the available data, the Scientific Committee notes that the production process of raw milk butter presents *L. monocytogenes* growth risks as the presence of this pathogen in raw milk cannot be excluded. It is important to apply a good HACCP plan. Regarding the modification of the CCP for the control of acidification, the Scientific Committee proposes the following adaptation: to reach a pH of 5,2 in the matured cream no later than 14 hours after the maturation start. The Scientific Committee proposes that by following good manufacturing practices (GMP) and recommendations of the HACCP plan (with the proposed CCP) and thus by having a sufficiently rapid and measured acidification of the cream, butter produced from raw milk with a pH < 5.2 can optionally be considered as a product of category 1.3 of Regulation (EC) No 2073/2005.

Recommendations

In the context of this opinion, the Scientific Committee makes the following recommendations:

- Include the systematic use of ferments in the manufacturing process of raw milk butters to ensure a rapid acidification of the cream and to limit the potential growth of *L. monocytogenes*.
 - The following CCP is proposed for the production process of raw milk butters : preserving the pH of the matured cream to < 5.2; processing time of maximum 14 hours since the beginning of maturation; the use of a temperature > 20°C and of an appropriate ferment. The pH determination must be carried out in a rigorous manner for each batch and the measured value must be accurate to one tenth of a unit (0.1).
 - It is recommended regular analyses for *L. monocytogenes* to be performed on raw milk butters before they are placed on the market.
 - The Scientific Committee is aware that the recommendations in this advice could lead to adjustments of production methods on the farm. In this regard, it is important that the dairy farms are well advised.
 - Continued communication with the consumer and raising awareness of consumers at risk. To this end, it is recommended that operators further inform the consumer about the possible risks associated with raw milk products, e.g. by providing the Scientific Committee information brochure regarding raw milk.
-

1. Termes de référence

1.1 Questions

Le Comité scientifique est invité, compte tenu des nouvelles informations fournies dans ce dossier et éventuellement disponibles dans la littérature scientifique, à donner un avis sur les questions suivantes :

- Est-il possible d'assouplir le point de contrôle critique (pH de la crème maturée < 5,2 ; au plus tard 10 heures après le début de la maturation) du processus de production des beurres au lait cru, compte tenu de la croissance potentielle de *L. monocytogenes* pendant le processus de production / dans le produit fini ?
- Les beurres de lait cru dont le pH est < 5,2 (dans le produit fini) peuvent-ils être classés comme des aliments prêts à consommer qui ne favorisent pas la croissance de *L. monocytogenes* (catégorie 1.3 du règlement (CE) n° 2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux 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 le « complément d'information sur l'étude du potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans le beurre au lait cru en Wallonie présentant un pH < 5,2 ». L'avis repose sur des nouvelles connaissances et données scientifiques disponibles, et de l'opinion d'experts.

2. Définitions et abréviations

AFSCA	Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire
a_w	Activité de l'eau
BPH	Bonnes Pratiques d'hygiène (<i>Good Hygiene Practices</i> en anglais)
BPF	Bonnes Pratiques de Fabrication (<i>Good Manufacturing Practices</i> en anglais)
CCP	Point critique de contrôle (= <i>Critical Control Point</i> en anglais)
HACCP	Analyse des dangers et gestion des points critiques de maîtrise (<i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i> en anglais)
pH	Le potentiel hydrogène
SciCom	Comité scientifique institué auprès l'AFSCA
cfu	Colony Forming Unit

Vu les discussions durant la réunion du groupe de travail le 18 octobre 2021 et les séances plénières du Comité scientifique le 26 novembre 2021 et 28 janvier 2022,

le Comité scientifique émet l'avis suivant :

3. Contexte/Introduction

3.1 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes est une bactérie de type bacille à coloration de Gram positive, anaérobie facultative et non sporulée (ANSES, 2020). La croissance de *L. monocytogenes* est possible dans les conditions suivantes : une température comprise entre -2 °C et 45 °C, un pH compris entre 4,0 et 9,6 et une activité de l'eau (a_w) comprise entre 0,92 et 1,00. *L. monocytogenes* est responsable d'une zoonose connue, la listériose. La littérature recense 13 sérovars basés sur les antigènes somatiques et flagellaires, les sérovars les plus fréquemment isolés lors des toxi-infections alimentaires sont les sérovars 1/2a, 1/2b, 1/2c et 4b qui représentent 95 % des cas de listérioses (ANSES, 2020 ; dos Santos *et al.*, 2021). *L. monocytogenes* est une bactérie ubiquitaire des sols et de l'environnement, elle est connue pour sa capacité à persister dans les environnements de production alimentaire. La voie de transmission la plus courante de *L. monocytogenes* à l'homme est l'alimentation. Dans de rares cas, une transmission directe est également possible, par exemple depuis une femme enceinte à son fœtus.

Les manifestations cliniques d'une infection par *L. monocytogenes* peuvent être des maladies non-invasives (essentiellement des gastroentérites) et des maladies invasives (septicémie, méningite et infection intra-utérines). Certains groupes de la population sont plus sensibles au développement d'une forme aiguë de la listériose, notamment les femmes enceintes, les personnes âgées (> 80 ans), les personnes immunodéprimées (comme par ex. les personnes infectées par le VIH, les patients suivant un traitement par chimiothérapie et les personnes prenant des antiacides) (ANSES, 2020 ; dos Santos *et al.*, 2021; CSS/Scicom, 2016). La listériose invasive à une létalité de 20 % à 30 %. Le temps d'incubation des maladies provoquées par *L. monocytogenes* varie de quelques heures à 2-3 jours pour une gastroentérite et de 3 jours à 3 mois pour les maladies invasives aiguës. Il n'existe pas pour l'heure une dose infectieuse minimale pour *L. monocytogenes*, celle-ci va être fonction de la souche ainsi que de la sensibilité de la personne infectée (ANSES, 2020 ; Sciansano, 2019).

3.2 Beurre

Selon l'Arrêté royal du 6 mai 1988 relatif au beurre et aux produits de beurre, le beurre est une matière grasse alimentaire semi-solide constituée en majeure partie d'une émulsion du type eau-dans-huile, obtenue exclusivement à partir de crème, de lait ou de leurs dérivés et sous-produits, et préparée

exclusivement depuis des procédés de barattage, de concentration ou de recombinaison. En outre, le beurre est composé d'au moins 80 % de graisse butyrique, de maximum 16 % d'eau, de maximum 2 % de matière sèche non-grasse et de maximum 1,5 % de sel (dans le cas du beurre salé).

De manière standard, le beurre est fabriqué par le barattage de la crème maturée. La crème peut être soumise à une maturation physique et/ou biologique. En cas de maturation physique, un refroidissement contrôlé est appliqué à la crème, de sorte que la matière grasse du lait obtienne la structure cristalline souhaitée. Lors de la maturation biologique, les bactéries lactiques, naturellement présentes ou en tant que ferments lactiques, provoquent une acidification de la crème. Généralement, les deux types de maturation sont combinées avant le barattage.

La contamination du beurre au lait cru par *L. monocytogenes* peut survenir à plusieurs moments durant le processus de production. Le lait cru peut être contaminé durant la collecte du lait ou suite à une mammite subclinique. Dans le cas des mammites subcliniques à *L. monocytogenes*, le pourcentage de vaches infectées par *L. monocytogenes* est en moyenne de 0.04 % et au moins une vache est positive dans 1,2% des exploitations laitières (Jensen *et al.*, 1996). Une mammite subclinique à *L. monocytogenes* chez les vaches est généralement limitée à un quartier (Jensen *et al.*, 1996; Hunt *et al.*, 2012, Ricchi *et al.*, 2019). Le nombre de *L. monocytogenes* dans le lait d'un quartier infecté contient 10^2 à 10^4 cfu/ml (Bourry *et al.*, 1995 ; Jensen *et al.*, 1996 ; Hunt *et al.*, 2012 ; Ricchi *et al.*, 2019). Selon le nombre de vaches ayant été traitées, le lait d'une vache présentant une mammite subclinique à *L. monocytogenes* peut ou non être fortement dilué dans la cuve à lait, ce qui entraîne une diminution du nombre de *L. monocytogenes*/ml de lait dans la cuve. D'autre part, le lait cru peut être contaminé par l'environnement pendant la traite et le stockage à la ferme. Si le lait n'est pas utilisé directement et est réfrigéré, il existe alors un risque de voir proliférer *L. monocytogenes* lors du stockage de ce lait. Une contamination environnementale par *L. monocytogenes* du beurre (pendant ou après sa fabrication) peut également avoir lieu (McLauchlin *et al.*, 2020). Le développement de *L. monocytogenes* peut aussi se produire durant le procédé de production (étape de maturation de la crème).

Si *L. monocytogenes* est présente dans le beurre au lait cru, il est important de pouvoir estimer l'éventuelle croissance ultérieure, au cours de la période de conservation du produit. Deux foyers sont rapportés dans la littérature internationale suite à la consommation de beurre contaminé par *L. monocytogenes*. Le premier foyer a eu lieu en Finlande en 1999 (Lyytikäinen *et al.*, 2000 ; Maijala *et al.*, 2001) et a touché 25 personnes (20 personnes souffrant de sepsis, 4 de méningites et 1 d'abcès). Au total 6 personnes sont décédées durant l'épidémie (SciCom, 2016 ; SciCom, 2019). Le second foyer a eu lieu en Angleterre en 2003 (Dawson *et al.*, 2006 ; McLauchlin *et al.*, 2020) où 17 personnes (11 femmes enceintes et 6 personnes de plus de 50 ans dont 4 étaient immunodéprimées) ont été atteintes de listériose entre janvier et juillet de cette année suite à la consommation de beurre contaminé présent dans des sandwiches vendus aux restaurants de plusieurs hôpitaux (Régions du Yorkshire-et-Humber et du Nord-Est de l'Angleterre). Les analyses menées en avril 2003 ont montré des taux de *L. monocytogenes* variant entre 20 et $1,8 \times 10^2$ cfu/g dans le produit fini.

3.3 Contexte de la demande d'avis

D'après la législation (Règlement (CE) N° 2073/2005), le critère pour *L. monocytogenes* dans les denrées alimentaires permettant la croissance de *L. monocytogenes* avant que la denrée alimentaire n'ait quittée le contrôle immédiat de l'exploitant du secteur alimentaire qui l'a fabriquée est l'absence

dans 25 g. Une limite de 100 cfu/g peut être appliquée si le producteur est en mesure de démontrer, à la satisfaction des autorités compétentes, que le produit respectera la limite de 100 cfu/g pendant la durée de conservation (Critère 1.2, Denrées alimentaires permettant le développement de *L. monocytogenes* de l'Annexe 1).

Les produits présentant un $\text{pH} \leq 4,4$ ou une $a_w \leq 0,92$, ou présentant un $\text{pH} \leq 5,0$ et une $a_w \leq 0,94$, ainsi que les produits dont la durée de conservation est inférieure à cinq jours sont considérés comme des denrées alimentaires qui ne permettent pas la croissance de *L. monocytogenes* et qui relèvent du critère de <100 cfu/g (Critère 1.3 de l'Annexe 1). D'autres catégories de produits peuvent également être classées dans cette catégorie si cela peut être justifié par des éléments scientifiques.

Actuellement, les producteurs de beurre de ferme au lait cru doivent prouver au niveau individuel que le produit présente des valeurs sous le seuil de 100 cfu/g durant toute la durée de conservation, ce qui n'est pas évident pour les producteurs qui ne produisent du beurre au lait cru qu'à petite échelle (Critère 1.2 ou 1.3).

Par le passé, le Comité scientifique s'était déjà prononcé dans les Avis 09-2016 et Avis 11-2019 sur différents tests de vieillissement et tests de provocation avec *L. monocytogenes* (SciCom, 2016 ; SciCom, 2019). Ces avis stipulent qu'il était impossible de se prononcer de manière générale sur le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans le beurre au lait cru car les scénarios « *worst case* » n'avaient pas été couverts. Le Comité scientifique s'était aussi prononcé sur le temps nécessaire à l'acidification de la crème durant l'étape de maturation afin de réduire le risque de croissance de *L. monocytogenes* dans le beurre au lait cru et le Comité scientifique avait défini que le pH de 5,2 devait être atteint dans les 10 premières heures du procédé de production (maturation de la crème).

Le Laboratoire « Qualité et Sécurité des Produits Agro-alimentaires » (Université de Liège - Gembloux Agro-Bio Tech, 2020) a fourni un complément d'information sur l'étude de 2018 (Université de Liège - Gembloux Agro-Bio Tech, 2018) qui a servi de base à l'élaboration de cet avis.

4. Avis

4.1 Évaluation du complément d'information sur le potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre au lait cru

Le Comité scientifique a évalué les nouveaux éléments concernant le potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans le beurre au lait cru. Ce dossier traite exclusivement de l'évaluation des risques liés au beurre de ferme au lait cru, plus précisément au potentiel de croissance de *L. monocytogenes*, et ne doit être interprété qu'en tant que tel.

Concernant les tests de provocation (challenge tests), le Comité scientifique souligne la capacité de croissance de *L. monocytogenes* dans la crème durant l'étape de maturation passant de 30 cfu/ml à environ 2000 cfu/g pour un échantillon et passant de 30 cfu/ml à 38 000 cfu/g pour un autre échantillon. Ces augmentations représentent une croissance de 1,8 et 3,1 log cfu/g respectivement (Tableau 1). Pendant la durée de conservation, une diminution du nombre de *L. monocytogenes* dans le beurre a été observée pour les quatre tests de provocation (Tableau 1).

Tableau 1 : Résultats des tests de provocation

	Inoculation crème <i>L. monocytogenes</i>	Maturation	Conservation	pH Beurre	<i>Listeria monocytogenes</i> moyenne (n=3) des dénombrements (log10 cfu/g) dans le beurre					δ (potentiel de croissance selon la norme 20976- 1 en log10 cfu/g)
					J0	J7	J14	J21	J30	
Jan20-SF14-1	50 cfu/ml	3 jours à 14°C	30 jours à 9°C	4,75	3,34	3,04	1,84	/	1,23	0
Jan21-SF14-1	30 cfu/ml	3 jours à 14°C	30 jours à 9°C	4,60	3,26	2,19	1,19	0,95	0,95	0
Jan21-SF14-2	30 cfu/ml	3 jours à 14°C	30 jours à 9°C	4,67	4,33	4,04	2,58	1,72	1	0
Jan21-SF14-3	30 cfu/ml	3 jours à 14°C	30 jours à 9°C	4,70	4,58	4,48	3,20	2,36	1,30	0

$\delta = \log_{\max} - \log_i$ où \log_{\max} est le dénombrement le plus élevé observé pour le lot et \log_i est le dénombrement initial du même lot

J0 = Jour 0 ; le début de la conservation

Le Comité scientifique est conscient que le potentiel de croissance se calcule normalement sur le produit fini mais il faut ici aussi tenir compte du contexte de production (l'étape de maturation de la crème) et le risque qui peut exister dans le produit fini lorsqu'il est mis sur le marché. Le Comité scientifique estime que le processus de production du beurre au lait cru est un processus à risque en raison de la présence éventuelle et de la croissance potentielle de *L. monocytogenes* pendant la production. Effectivement, on ne peut exclure la présence de *L. monocytogenes* dans le lait cru et cette bactérie peut se développer pendant la maturation de la crème, comme l'a démontré l'étude, et donc mener à un produit fini où le taux de *L. monocytogenes* dépasse la limite de 100 cfu/g, même si la concentration initiale était faible dans le lait cru. Il est donc important de contrôler correctement le processus de production en appliquant de bonnes pratiques de fabrication et en suivant le plan HACCP adéquat.

4.2 Maitrise de *L. monocytogenes* au cours du processus de production des beurres au lait cru

La contamination du beurre au lait cru peut survenir à plusieurs moments durant le processus de production. Le lait cru peut être contaminé durant la collecte du lait ou suite à une mammite subclinique à *L. monocytogenes*. Bien que la mammite subclinique causée par *L. monocytogenes* soit rare, le lait provenant d'un quartier infecté peut entraîner un niveau de contamination accrue du lait cru (de 10^1 à plus de 10^2 cfu/ml, selon le facteur de dilution) dans la cuve de lait cru (Bourry *et al.*, 1995 ; Jensen *et al.*, 1996 ; Hunt *et al.*, 2012 ; Ricchi *et al.*, 2019).

La croissance de *L. monocytogenes* peut se produire durant le procédé de production (étape de maturation de la crème). L'étude complémentaire s'est concentrée sur la durée nécessaire à l'acidification pour atteindre le pH de 5,2. En effet, le précédent avis du SciCom (SciCom, 2019) avait conclu que le temps nécessaire pour cette acidification ne devait pas dépasser 10 heures. L'avis du SciCom (SciCom, 2021) a déjà répondu à une question sur la durée de l'acidification.

*« Le processus de production doit être maîtrisé et le point critique de contrôle (CCP) pH < 5,2 doit être atteint au plus tard 10 heures après le début de la fermentation. La diminution du pH est réaliste si un ferment est ajouté ; c'est également le processus généralement recommandé pour la fabrication de beurre au lait cru dans le contexte de la maîtrise du risque lié à *L. monocytogenes*. [...] Le beurre est un produit fini relativement sûr si son pH est suffisamment bas (< 5,2). [...] La rapidité de la maturation de la crème constitue un CCP important pour limiter une croissance potentielle de *L. monocytogenes*, et en particulier pour la production du beurre au lait cru puisque le lait cru utilisé peut potentiellement être contaminé. »*

Les résultats de l'étude complémentaire ont montré que le temps nécessaire pour atteindre un pH de 5,2 oscillait entre 11 et 14 heures si la maturation de la crème se faisait à 14°C et si un ferment était utilisé (en l'absence de ferment cette acidification prendrait entre 50 et 65 heures à 14°C). Les mesures du pH pendant la maturation de la crème en conditions pratiques (dans les fermes) ont montré que sur les 13 fermes analysées (5 utilisaient des ferments et 7 n'en utilisaient pas), deux fermes utilisant un ferment atteignaient un pH de 5,2 en 12 heures à des températures de 18°C et 22°C. Les résultats ont aussi montré que deux autres fermes atteignaient le pH 5,2 en 19h (une avec ferment, l'autre sans ferment). La ferme utilisant un ferment faisait sa maturation entre 20 et 25°C tandis que la ferme n'utilisant pas de ferment faisait sa maturation à 24°C.

La vitesse d'acidification dépend de la combinaison temps-température utilisée durant la maturation de la crème. Cependant, les processus de maturation varient fortement en Belgique, cela avait déjà été mis en avant dans l'avis du SciCom (SciCom, 2016) et les résultats fournis dans l'étude complémentaire le confirment encore une fois. L'utilisation d'un ferment durant la maturation, telle que l'étude le suggère, semble être une bonne chose pour le Comité scientifique car plus l'acidification est lente, plus le risque de croissance de *L. monocytogenes* augmente. L'utilisation de ferments va permettre une acidification plus rapide de la crème comme le montre les résultats des tests réalisés en ferme.

En raison de la présence potentielle de *L. monocytogenes* dans le lait cru, des mesures de gestion doivent être prises pour réduire le risque. Il est recommandé d'effectuer régulièrement des analyses de détection de *L. monocytogenes* sur les beurres au lait cru avant leur mise sur le marché. En outre, la croissance potentielle de *L. monocytogenes* doit être limitée pendant les processus de production utilisant un CCP.

4.3 Réponse aux termes de référence sur le point de contrôle critique du processus de production des beurres au lait cru

Sur la base des données de l'étude, le Comité scientifique recommande que le temps nécessaire pour acidifier la crème jusqu'à un pH < 5,2 soit assoupli à un maximum de 14 heures. Mais l'opérateur doit savoir qu'au plus le temps pour atteindre un pH de 5,2 est élevé, plus le risque de développement de *L. monocytogenes* est élevé. Pour réaliser cette acidification rapide, l'utilisation de ferments est

nécessaire. Une température suffisamment élevée est nécessaire pour assurer le bon fonctionnement des ferments ajoutés. Si le producteur des ferments donne une recommandation, par exemple sur la température d'utilisation, il faut la suivre. Le Comité scientifique est d'avis qu'une température de 10-20°C est insuffisante pour une performance optimale des ferments.

Le CCP suivant est proposé pour le processus de production du beurre au lait cru : pH de la crème maturée < 5,2 ; au plus tard 14 heures après le début de la maturation ; en utilisant une température > 20°C et avec l'utilisation d'un ferment.

4.4 Classification des produits selon le Règlement (CE) No 2073/2005

En ce qui concerne la classification des produits de la catégorie 1.3 (Denrées alimentaires prêtes à être consommées ne permettant pas le développement de *L. monocytogenes*, autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales) du règlement (CE) n° 2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires, le Comité scientifique souhaite souligner que le contexte est également important. Les critères microbiologiques fournissent aussi une orientation sur l'acceptabilité des denrées alimentaires et de leurs procédés de fabrication, de manutention et de distribution. L'utilisation de ces critères devrait faire partie intégrante de la mise en œuvre des procédures fondées sur les principes HACCP, les bonnes pratiques de fabrication (BPF) et les bonnes pratiques d'hygiène (BPH). Le Comité scientifique note que les opérateurs doivent toujours tendre vers l'absence de *L. monocytogenes* dans leurs produits. Ainsi, même en cas d'utilisation d'une limite maximale de 100 cfu/g, la détection de *L. monocytogenes* devrait constituer un motif d'action corrective et de surveillance supplémentaire de la mise en œuvre des BPF et du plan HACCP dans le procédé de production. L'étape de maturation de la crème lors du processus de production des beurres au lait cru est une étape à risque. Afin de contrôler le risque autant que possible, un nouveau CCP a été proposé pour la maturation de la crème (atteindre un pH < 5,2 en 14 heures).

Cependant, la mise en place de ce CCP ne change rien au fait qu'il existe une réelle possibilité que le lait cru soit contaminé par *L. monocytogenes* dès le début du procédé de production et que cette bactérie, même en faible concentration initiale, puisse potentiellement se développer au cours du processus de production (maturation de la crème). En conséquence, *L. monocytogenes* peut être isolée ou dénombrée (éventuellement à des concentrations > 100 cfu/g) dans le produit fini et ainsi présenter un risque pour les consommateurs, en particulier pour certains groupes de consommateurs à risque.

4.5 Réponse aux termes de référence sur la classification des beurres de lait cru (pH < 5,2) selon Règlement (CE) No 2073/2005

Selon le règlement (CE) n° 2073/2005, un producteur de denrées alimentaires ne peut commercialiser que des produits qui contiennent un maximum de 100 cfu *L. monocytogenes*/g. L'application stricte de procédures fondées sur le système HACCP, BPH et BPF peuvent limiter la croissance de *L. monocytogenes* pendant le processus de maturation de la crème. Cependant, il ne peut être exclu que la crème mûre contienne un nombre élevé de *L. monocytogenes* et conduise à un beurre au lait cru contenant un nombre élevé de *L. monocytogenes*. Par conséquent, le Comité scientifique propose que la vérification régulière du processus de production ait lieu par le biais de recherches de *L. monocytogenes* (qualitativement et quantitativement) dans le beurre prêt à être commercialisé.

Les résultats des tests de conservation montrent que, pendant la durée de vie du beurre au lait cru, la croissance de *L. monocytogenes* n'a lieu que lorsque le beurre a un pH > 5,2. Le Comité scientifique propose donc que le beurre au lait cru produit à partir de crème mûre qui répond au CCP (pH <5,2 ; au plus tard 14 heures après le début de la maturation) puisse être considéré comme un produit de la catégorie 1.3. Le beurre au lait cru dont la crème mûre ne répond pas au CCP proposé doit rester un produit de catégorie 1.2.

Une communication suffisante au consommateur, notamment en ce qui concerne les groupes à risque pour les infections à *L. monocytogenes* comme les femmes enceintes, les personnes âgées et les patients immunodéprimés, est recommandée.

5. Incertitudes

Différentes incertitudes doivent être prises en compte pour cet avis :

- Concernant les tests de provocation, le Comité scientifique a soulevé plusieurs questions expérimentales par rapport aux recommandations « EURL *Lm* Technical guidance document ». La concentration de l'inoculum de base (30 ou 50 cfu/ml) n'était pas de 100 cfu/g. Normalement le nombre de lots différents utilisés pour réaliser les tests de provocation devait être de 3, prélevés à différents jours de production. Cependant, le Technical Guidance document a été révisé en juillet 2021 et les expériences présentées ici ont été réalisées en respectant une version antérieure du Technical guidance document (selon l'ancienne version du Technical guidance document, le taux acceptable pour l'inoculum de base était de 30 à 300 cfu/g ; tandis que dans la nouvelle version du Technical guidance document, le taux acceptable pour l'inoculum de base est de 50 à 200 cfu/g), ce qui peut avoir un impact sur le calcul du potentiel de croissance.
- Les critères microbiologiques fournissent une orientation sur l'acceptabilité des denrées alimentaires et de leurs procédés de fabrication, de manutention et de distribution. L'utilisation de ces critères devrait faire partie intégrante de la mise en œuvre des procédures fondées sur les principes HACCP, BPH et BPF. Une analyse n'est qu'un échantillonnage, donc l'absence de détection de *L. monocytogenes* (ou une détection <100 cfu/g) ne garantit pas que *L. monocytogenes* n'est pas présente dans l'ensemble du lot ou que sa concentration soit inférieure à 100 cfu/g.

6. Conclusions

Le Comité scientifique avait émis plusieurs recommandations dans ses avis précédents (SciCom, 2016, SciCom, 2019 & SciCom, 2021) relatifs au potentiel de croissance de *L. monocytogenes* dans le beurre. Le contrôle du pH est devenu un CCP du processus de production du beurre de ferme au lait cru (acidification jusqu'à un pH de 5,2 en 10 heures) mais l'utilisation de ferments pour permettre une acidification rapide telle que recommandée par l'avis du Comité scientifique de 2016 (SciCom, 2016) n'est pas encore suivie partout, ce qui contribue à la grande variabilité des processus de production. Le complément d'étude fourni dans le cadre de cet avis vient appuyer cette recommandation de 2016 en mettant en avant la nécessité d'utiliser un ferment pour atteindre rapidement un pH inférieur à 5,2.

En effet, l'utilisation de ferments garantit une acidification de la crème en un maximum de 14h ce qui aurait pour effet de fortement limiter la croissance de *L. monocytogenes* au début de la production du beurre au lait cru. Cette croissance en début de production a été mise en avant dans le complément d'étude fourni où la non-utilisation de ferments a permis la croissance de *L. monocytogenes* lors de l'étape de maturation de la crème. Le Comité scientifique recommande d'appliquer un plan HACCP adéquat ainsi que de bonnes pratiques de fabrication durant le processus de production.

Le Comité scientifique propose l'adaptation suivante du CCP pour le processus de production du beurre au lait cru : atteindre un pH de 5,2 dans la crème maturée au plus tard 14 heures après le début de la maturation, à une température supérieure à 20°C et avec l'utilisation d'un ferment. Le Comité scientifique propose qu'en suivant les BPF, les BPH, un plan HACCP adéquat (avec le CCP proposé) et donc en ayant une acidification suffisamment rapide et mesurée de la crème, le beurre produit à partir de lait cru avec un pH < 5,2 peut être considéré comme produit de catégorie 1.3 du Règlement (CE) No 2073/2005.

Les résultats des tests de provocation fournis dans l'étude ont montré que le processus de production (étape de maturation de la crème) présentait des risques de croissance de *L. monocytogenes* car on ne peut exclure la présence de *L. monocytogenes* (ou éventuellement d'autres agents pathogènes) dans le lait cru. Le Comité scientifique estime que le processus de production du beurre au lait cru est un processus à risque en raison de la présence éventuelle et de la croissance potentielle de *L. monocytogenes*. Il est donc important de contrôler correctement le processus de production en appliquant de bonnes pratiques de fabrication et en suivant le plan HACCP adéquat. De plus, il convient de correctement informer les groupes de consommateurs à risques concernant des risques liés à la consommation de produits à base de lait cru.

7. Recommandations

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

- Inclure l'utilisation systématique de ferments dans les processus de fabrication des beurres au lait cru afin de garantir une acidification rapide de la crème et de limiter la croissance potentielle de *L. monocytogenes*.
- Le CCP suivant est proposé pour le processus de production du beurre au lait cru : pH de la crème maturée < 5,2 ; au plus tard 14 heures après le début de la maturation ; en utilisant une température > 20°C et avec l'utilisation d'un ferment approprié. La détermination du pH doit être effectuée de manière rigoureuse pour chaque lot et la valeur mesurée doit être précise à un dixième d'unité (0,1).
- Il est recommandé d'effectuer régulièrement des analyses pour le *L. monocytogenes* sur les beurres au lait cru avant leur mise sur le marché.
- Le Comité scientifique est conscient que les recommandations de cet avis entraîneront peut-être des adaptations au niveau des méthodes de production dans les exploitations. Dans ce contexte, il est important de correctement conseiller les exploitations laitières.
- Continuer la communication envers le consommateur et sensibiliser les consommateurs à risque. De plus, il est recommandé aux opérateurs d'informer davantage le consommateur sur

les risques possibles liés aux produits à base de lait cru, par exemple en mettant à disposition la brochure d'information du Comité scientifique sur le lait cru (SciCom, 2014).

Pour le Comité scientifique,
La Présidente,

Dr. L. Herman (Sé.)
Le 04/02/2022

Références

ANSES (2020). Data sheet on foodborne biological hazards: "*Listeria monocytogenes*". Disponible via le lien suivant: <https://www.anses.fr/en/system/files/BIORISK2016SA0081FiEN.pdf>

Bourry A, Poutrel B, Rocourt J. Bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*: characteristics of natural and experimental infections. J Med Microbiol. 1995 Aug;43(2):125-32. doi: 10.1099/00222615-43-2-125. PMID: 7629852.

CSS/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.

Dos Santos JS, Biduski B, Dos Santos LR. *Listeria monocytogenes*: health risk and a challenge for food processing establishments. Arch Microbiol. 2021 Dec;203(10):5907-5919. doi: 10.1007/s00203-021-02590-2. Epub 2021 Oct 13. PMID: 34647141.

Dawson SJ, Evans MR, Willby D, Bardwell J, Chamberlain N, Lewis DA. Listeria outbreak associated with sandwich consumption from a hospital retail shop, United Kingdom. Euro Surveill. 2006;11(6):89-91. PMID: 16801694.

EURL (2021). EURL Lm TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Version 4 – 1 July 2021

Hunt K, Drummond N, Murphy M, Butler F, Buckley J, Jordan K. A case of bovine raw milk contamination with *Listeria monocytogenes*. Irish Vet. J. 2012, 65:13. <http://www.irishvetjournal.org/content/65/1/13>

Jensen NE, Aarestrup FM, Jensen J, Wegener HC. *Listeria monocytogenes* in bovine mastitis. Possible implication for human health. Int J Food Microbiol. 1996 Sep;32(1-2):209-16. doi: 10.1016/0168-1605(96)01105-1. PMID: 8880340.

Lyytikäinen O, Autio T, Maijala R, Ruutu P, Honkanen-Buzalski T, Miettinen M, Hatakka M, Mikkola J, Anttila VJ, Johansson T, Rantala L, Aalto T, Korkeala H, Siitonen A. An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. J Infect Dis. 2000 May;181(5):1838-41. doi: 10.1086/315453. Epub 2000 May 9. PMID: 10823797.

Maijala R, Lyytikäinen O, Autio T, Aalto T, Haavisto L, Honkanen-Buzalski T. Exposure of *Listeria monocytogenes* within an epidemic caused by butter in Finland. Int J Food Microbiol. 2001 Oct 22;70(1-2):97-109. doi: 10.1016/s0168-1605(01)00532-3. PMID: 11759767.

McLauchlin J, Grant KA, Amar CFL. Human foodborne listeriosis in England and Wales, 1981 to 2015. Epidemiol Infect. 2020 Feb 19;148:e54. doi: 10.1017/S0950268820000473. PMID: 32070445; PMCID: PMC7078583.

Ricchi M, Scaltriti E, Cammi G, Garbarino C, Arrigoni N, Morganti M, Pongolini S. Short communication: Persistent contamination by *Listeria monocytogenes* of bovine raw milk investigated by whole-genome sequencing. J Dairy Sci. 2019 Jul;102(7):6032-6036. doi: 10.3168/jds.2019-16267. Epub 2019 May 15. PMID: 31103293.

SciCom (2016). Avis 09-2016 du Comité scientifique du 20 mai 2016 sur la croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre fermier à base de lait cru (dossier SciCom 2016/06). Disponible via le lien suivant : http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/2016/ documents/Avis09-2016_Listeriabeurre.pdf

SciCom (2019). Avis 11-2019 du Comité scientifique 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 : https://www.favv-afsca.be/comitescientifique/avis/2019/ documents/Avis11-2019_SciCom2018-17_listerialaitcrubeurre_000.pdf

SciCom (2021). Avis 06-2021 du Comité scientifique du 26 mars 2021 sur l'évaluation du guide d'autocontrôle G-034 pour la production et la vente de produits laitiers à petite échelle et du module « Production de produits laitiers », un supplément au guide d'autocontrôle générique G-044 pour le secteur B2C. Disponible via le lien suivant : https://www.favv-afsca.be/comitescientifique/avis/2021/ documents/Avis06-2021-SciCom2020-13_15-Guideproduitslaitierspetiteechelle.pdf

Université de Liège - Gembloux Agro-Bio Tech (2018). Etude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre au lait cru en Wallonie.

Université de Liège - Gembloux Agro-Bio Tech (2021). Complément d'information sur l'étude du potentiel de croissance de *Listeria monocytogenes* dans le beurre au lait cru en Wallonie présentant un pH <5,2.

Présentation du Comité scientifique institué auprès l'AFSCA

Le Comité scientifique (SciCom) est un organe consultatif institué auprès 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 :

A. Clinquart*, P. Delahaut, B. De Meulenaer, N. De Regge, J. Dewulf, L. De Zutter, A. Geeraerd, N. Gillard, L. Herman, K. Houf, N. Korsak, L. Maes, M. Mori, A. Rajkovic, N. Roosens, C. Saegerman, M.-L. Scippo, P. Spanoghe, K. Van Hoorde, Y. Vandenplas, F. Verheggen, P. Veys**, S. Vlaeminck

* membre jusqu'en décembre 2021

** membre à partir de janvier 2022

Conflit d'intérêts

Aucun conflit d'intérêts n'a été constaté.

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 A. Rajkovic et M. Mori 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. Geeraerd, L. Herman, C. Saegerman, K. Van Hoorde
Experts externes :	V. Delcenserie (ULiège), M. Polet (Sciensano), M. Uyttendaele (UGent)
Gestionnaires du dossier :	Y. Diaz Iglesias, K. Feys

Les activités du groupe de travail ont été suivies par les membres de l'administration suivants (comme observateurs) : V. Cantaert (AFSCA) et N. De Zutter (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 24 septembre 2020.

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	Non détectée ◀ 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	Non détectée ◀ 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 d'unité d'échantillonnage donnant des valeurs comprises entre m et M.

⁽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,
- Sel de qualité alimentaire.

⁽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.