



**COMITÉ SCIENTIFIQUE
DE L'AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ
DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE**

AVIS 42-2006

Objet: Demande d'agrément d'une nouvelle méthode d'analyse des substances inhibitrices dans le cadre de la détermination officielle de la qualité et de la composition du lait. (Dossier 2006/34)

Le Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire,

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

Vu 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 ;

Considérant le 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 le 12 juillet 2001 ;

Vu la demande d'avis de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire concernant l'agrément d'une nouvelle méthode d'analyse des substances inhibitrices dans le cadre de la détermination officielle de la qualité et de la composition du lait;

Considérant les discussions au cours de la réunion du groupe de travail du 6 septembre 2006 et des séances plénières du 8 septembre et du 13 octobre 2006;

donne l'avis suivant :

Dans le cadre de la détermination officielle de la qualité du lait cru, une analyse pour la recherche de substances inhibitrices est effectuée par les Organismes Interprofessionnels (O.I.) sur chaque livraison en Belgique. Depuis le 1^{er} octobre 2005, il s'agit d'un screening du lait cru à l'aide du Copan Milk Test, suivi de certains tests de confirmation en cas de résultat positif du screening (voir schéma 1).

Le Copan Milk Test est un test inhibiteur microbiologique d'une durée d'incubation fixe de 3 heures. Les épreuves de confirmation ont pour but (i) d'empêcher que la présence d'inhibiteurs naturels dans le lait n'entraîne une pénalisation de l'éleveur concerné (p.ex. teneur accrue en lactoferrine ou en lysozyme), (ii) de faire, à l'aide de la pénicillinase (ou β -lactamase) une distinction entre les résidus provenant du groupe des β -lactames (pénicillines et céphalosporines) ou d'autres inhibiteurs (p.ex.

sulfonamides, tétracyclines), et (iii) de corriger, par une dilution, l'hypersensibilité du test de screening microbiologique à la plupart des composés du groupe des β -lactames.

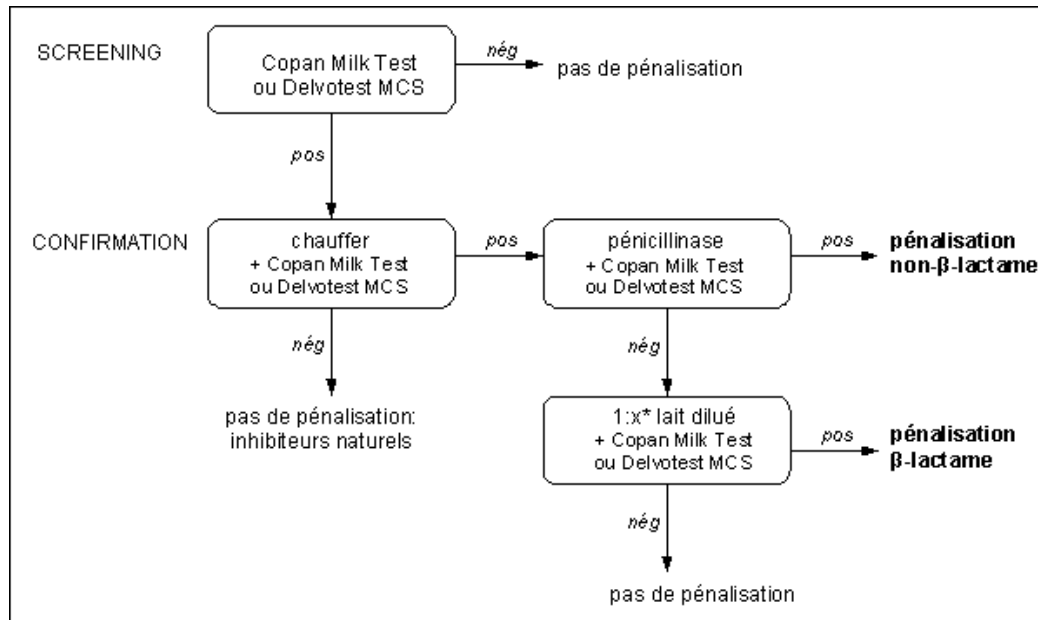


Schéma 1. Méthode actuelle pour la détection des inhibiteurs exogènes de croissance des bactéries dans le lait. x*: facteur de dilution destiné à ramener la limite de pénalisation pour la benzylpénicilline à 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (= MRL¹, Règlement (CEE) n° 2377/90²). Le Copan Milk Test et le Delvotest sont deux tests microbiologiques; à partir d'octobre 2005, les O.I. n'utilisent plus que le premier test cité.

A la demande des éleveurs laitiers, les O.I. se posent la question de savoir si, dans l'analyse des inhibiteurs, l'usage d'un test rapide pour la confirmation est permis. Les avantages de l'utilisation d'un test rapide sont la possibilité de détecter plus rapidement des substances inhibitrices dans le lait, et l'application de 2 tests de principe différent (test inhibiteur microbiologique et test basé sur des récepteurs). Dans ce contexte, l'ILVO (T&V)³ a évalué un certain nombre de tests rapides, dont le test β -s.t.a.r 25 (UCB-Bioproducts s.a.) (Reybroeck & Ooghe, 2006), et un rapport a été établi par le CRAW-DQPA⁴ (Dardenne *et al.*, 2006). Concernant un des tests rapides évalués, à savoir le test β -s.t.a.r 25, la DG Laboratoires de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire a soumis les questions suivantes au Comité scientifique :

1. Peut-on décider sur base du rapport de l'ILVO que le test β -s.t.a.r 25 convient pour la détermination de benzylpénicilline dans le lait cru au niveau de la MRL (4 $\mu\text{g}/\text{kg}$) dans le cadre de la détermination officielle de la qualité et de la composition du lait par les O.I. ?

¹ Maximal Residue Level

² Règlement (CEE) n° 2377/90 du Conseil du 26 juin 1990 établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale.

³ Instituut voor Landbouw- en Visserijonderzoek, Eenheid Technologie & Voeding

⁴ Centre Wallon de Recherches Agronomiques de Gembloux – Département Qualité des Productions Agricoles

En ce qui concerne l'analyse de la benzylpénicilline et de la plupart des autres β -lactames, le test β -s.t.a.r 25 répond aux critères imposés dans la Décision de la Commission du 12 août 2002 portant modalités d'application de la Directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats (2002/657/CE) (Reybroeck & Ooghe, 2004; Reybroeck, 2000). Ainsi, pour les méthodes de screening l'erreur β^5 doit être inférieure à 5 %. Ceci signifie que les échantillons qui contiennent des résidus à une concentration égale à la MRL, doivent être détectés avec le test de screening dans plus de 95% des cas. Par conséquent, le test β -s.t.a.r 25 peut être utilisé par les O.I. dans le cadre de la détermination officielle de la qualité et de la composition du lait pour la détermination de la benzylpénicilline dans le lait cru.

Le Comité scientifique fait remarquer que le test rapide, comme les autres tests rapides et les tests microbiologiques, est essentiellement un test qualitatif, ce qui rend une quantification correcte et reproductible au niveau de la MRL impossible.

2. Les O.I. peuvent-ils utiliser le test rapide β -s.t.a.r 25 comme test de confirmation après un résultat positif suite au screening au moyen du Copan Milk Test, dans le cadre de la détermination officielle de la qualité du lait ?

Le test rapide β -s.t.a.r 25 peut être utilisé comme l'un des tests de confirmation après un résultat positif après screening au moyen du Copan Milk Test, de telle sorte que l'éleveur de vaches laitières, dont les échantillons sont non conformes en ce qui concerne la présence des antibiotiques du groupe des β -lactames, puisse être informé plus rapidement.

Au cas où le test rapide donne un résultat négatif, d'autres tests sont nécessaires pour exclure que la contamination concerne des inhibiteurs naturels ou des antibiotiques non- β -lactames (voir réponse aux questions 3 et 4).

3. Les O.I. peuvent-ils remplacer les tests actuels de confirmation (Copan Milk Test après chauffage, traitement à la pénicillinase et/ou dilution) par le test rapide proposé? Quel test de confirmation des deux tests préfère-t-on dans une perspective de sécurité alimentaire ?

Le test rapide β -s.t.a.r 25 ne permet que la détection des antibiotiques β -lactames et, par conséquent, ne peut pas être utilisé en remplacement de tous les tests de confirmation actuels. Bien que pour l'administration intramammaire chez les vaches en lactation et les vaches tarées, on utilise jusqu'à présent essentiellement des antibiotiques β -lactames, l'utilisation exclusive du test rapide comme test de confirmation donnerait la fausse impression que le lait n'est plus contrôlé pour la présence d'antibiotiques non- β -lactames et que l'utilisation des substances actives faisant partie du groupe non- β -lactame n'est pas pénalisée.

Contrairement au test rapide β -s.t.a.r 25, le Delvotest et le Copan Milk Test permettent encore de détecter d'autres composés que ceux du groupe β -lactame, mais avec une sensibilité plus restreinte. Pour détecter tous les composés figurant sur la liste MRL de l'UE, une combinaison de plusieurs méthodes est toutefois requise.

⁵ Erreur β : probabilité que l'échantillon testé soit véritablement non conforme, même si une mesure conforme a été obtenue («décision fondée sur un faux résultat conforme»).

4. Dans le cadre de la détermination officielle de la qualité et de la composition du lait par les O.I., l'utilisation de tests rapides spécifiques des β -lactames tels que présentés dans les schémas de l'ILVO (p. 17, fig. 6) et du DQPA (p. 6) entraînerait-elle une meilleure détection des substances inhibitrices non naturelles ?

Le schéma 2 présente une procédure possible pour l'utilisation de tests rapides spécifiques des β -lactames (p.ex. le test rapide β -s.t.a.r 25) pour l'analyse des inhibiteurs dans le cadre de la détermination officielle de la qualité du lait, comme présenté dans le rapport de l'ILVO.

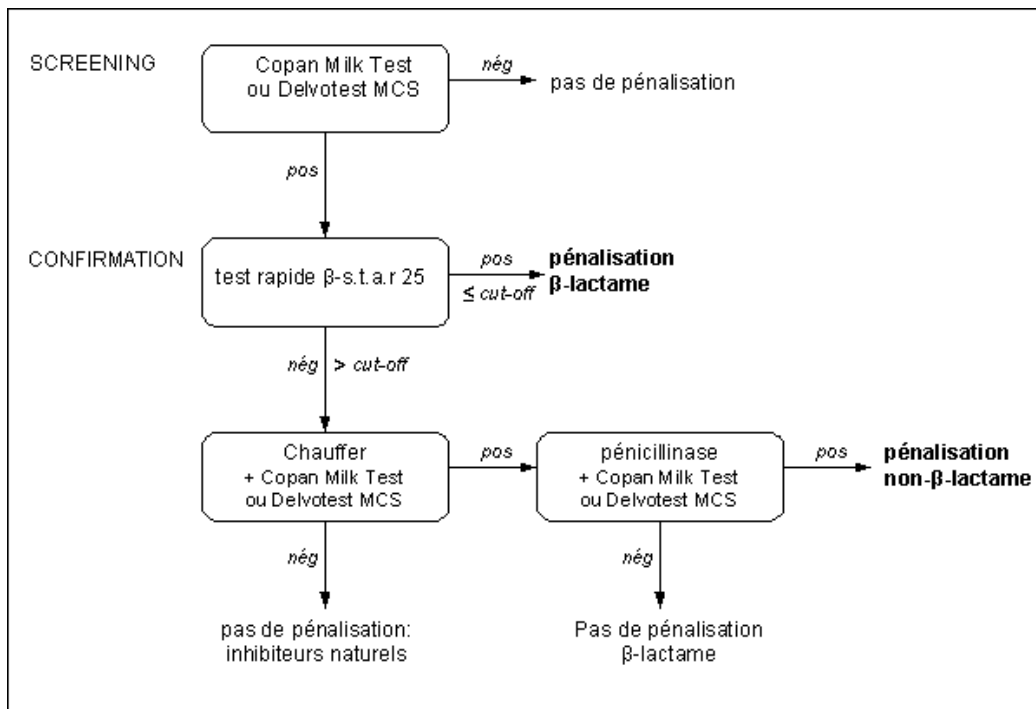


Schéma 2. Schéma de tests possible pour l'analyse des inhibiteurs dans les O.I. (source: Reybroeck & Ooghe, 2006).

D'après ce schéma, un résultat positif du test microbiologique est confirmé à l'aide du test rapide. Si le test rapide fournit un résultat négatif, il faut d'abord vérifier si les substances inhibitrices naturelles présentes dans le lait ont provoqué le résultat positif du Copan Milk Test. Si ce n'est pas le cas, le lait doit être traité à la pénicillinase et retesté afin d'exclure que le résultat positif du screening ne soit pas dû à des substances inhibitrices ne faisant pas partie du groupe des β -lactames.

Les tests rapides spécifiques des β -lactames peuvent par conséquent remplacer la dilution du lait, mais pas le chauffage et le traitement à la pénicillinase en cas de résultat positif du screening avec le Copan Milk test et d'un résultat négatif lors de l'étape de confirmation avec un test rapide spécifique des β -lactames.

Tant le Copan Milk Test que le Delvotest sont plus sensibles à certains β -lactames que le test rapide β -s.t.a.r 25 et autres tests rapides spécifiques des β -lactames. De ce fait, le Copan Milk test et le Delvotest peuvent donner un résultat positif, alors que le test rapide donne un résultat négatif. Afin de ne pas conclure erronément que la contamination concerne dans ce cas des composés non- β -lactames, il faut conserver l'étape de confirmation à la pénicillinase.

S'il ressort du monitoring général ou ciblé que des problèmes se posent avec la détection de certaines substances antimicrobiennes, la procédure proposée doit être adaptée par l'ajout par exemple de plusieurs tests rapides qui détectent certains antibiotiques plus proche de la MRL.

Pour le Comité scientifique,
Le Président,

Prof. Dr. Ir. A. Huyghebaert
Bruxelles, le 17 octobre 2006

Références

Dardenne, P., Dehareng, F., Laloux, J., Romnee, J.-M. & Sinnaeve, G. (2006) Avis du CRAW-DQPA : Utilisation des tests rapides comme tests de confirmation lors de la détection des substances antimicrobiennes dans le lait dans le cadre de la détermination de la qualité du lait cru, CRAW-DQPA, Gembloux.

Reybroeck, W. & Ooghe, S. (2006) Gebruik van sneltesten als bevestigingstest bij de opsporing van bacteriegroeiremmende stoffen in melk in het kader van de officiële kwaliteitsbepaling van rauwe melk, T&V-ILVO, Melle.

Reybroeck, W. & Ooghe, S. (2004) Rapid screening for residues of antibiotics in milk at the factory. In A Farm-to-Table Approach for Emerging and Developed Dairy Countries, Proceedings IDF/FAO International Symposium on Dairy Safety and Hygiene, Cape Town, Rep. of South -Africa, 2-5 March 2004. ISSN 1810-0732, 157-161 (2004).

Reybroeck, W. (2000) Evaluation of the β s.t.a.r. for the detection of β -lactam antibiotics. Proceedings 2nd International FoodSENSE Workshop, Zeven, Duitsland, 30 maart - 1 april 2000.