



**COMITE SCIENTIFIQUE DE
L'AGENCE FEDERALE POUR LA SECURITE
DE LA CHAINE ALIMENTAIRE**

AVIS 09-2008

Objet : Résidus de substances bactériostatiques dans des lésions des sites d'injection et des échantillons de viande (dossier Sci Com 2007/26).

Avis validé par le Comité scientifique le 15 février 2008.

Résumé

Les substances bactériostatiques peuvent être détectées chez les animaux de boucherie par plusieurs méthodes microbiologiques ou physico-chimiques. Le Comité scientifique estime que le test rénal belge est une méthode valable pour le pré-screening au niveau des carcasses. Si le test rénal est positif, il a lieu de procéder à une analyse d'un échantillon de viande par la méthode 4 plaques, un résultat positif devant être confirmé via une analyse physico-chimique. Indépendamment du test rénal, s'il y a une lésion, au niveau d'un site d'injection, elle doit toujours faire l'objet d'un prélèvement en même temps qu'un prélèvement d'un échantillon de viande, et être incluse dans l'analyse. Le Comité scientifique est d'avis qu'il est important de découper la lésion présente au niveau du site d'injection selon la directive de l'EMEA. Cette directive est en effet d'application pour la fixation des délais d'attente, et le prélèvement d'un échantillon trop petit peut donner lieu à une concentration plus élevée de la substance bactériostatique et à une décision erronée concernant la déclaration de la carcasse comme impropre à la consommation humaine.

Le Comité scientifique estime que si des résidus de substances pharmacologiquement actives à une concentration supérieure à la LMR (Limite Maximale de Résidus) sont détectés au niveau d'une lésion d'un site d'injection alors que la concentration est inférieure à la LMR pour l'échantillon de viande, un rejet partiel de la carcasse est suffisant. La découverte d'une lésion d'injection doit toutefois toujours mener à une déclaration des organes comme impropres à la consommation humaine.

Summary

Advice 09-2008 of the Scientific Committee of the FASFC: antimicrobial residues in injection-site lesions and in meat samples

Antimicrobial residues can be detected in slaughtered animals with different microbiological or physicochemical methods. The Scientific Committee is of the opinion that the Belgian kidney test is a useful method for the pre-screening of slaughtered animals. When the kidney test

yields a positive result, the meat sample needs to be analysed with the 4-plate method and a positive result thereof needs to be confirmed by a physicochemical analysis. Independently from the Belgian kidney test, in case an injection-site lesion is present, it always has to be sampled in combination with a meat sample and it has to be included in the investigation. The Scientific Committee is of the opinion that it is important to excise an injection-site lesion in accordance with the EMEA-guideline. This guideline is used for the determination of the withdrawal period and taking a smaller sample can result in a higher concentration of the antimicrobial residue and a wrong decision concerning the declaration of the carcass as being unfit for human consumption.

The Scientific Committee is of the opinion that, when residues of pharmacological substances above the MRL (Maximum Residue Limit) are present in the injection-site lesion, while the concentration in the meat sample is below the MRL, a partial rejection of the carcass is appropriate. However, the presence of an injection-site lesion always has to result in the declaration that the organs are unfit for human consumption.

Mots clés

Lésion de site d'injection, substance bactériostatique, techniques d'analyse, test rénal, expertise

1. Termes de référence

Le Règlement (CE) 854/2004 stipule que les viandes doivent être déclarées impropres à la consommation humaine si elles contiennent plus de résidus que la quantité autorisée par la législation communautaire. Dans le cadre de l'expertise post-mortem des carcasses d'animaux, il arrive dans la pratique que l'on trouve des résidus de substances bactériostatiques au-delà de la LMR (Limite Maximale de Résidus) dans des lésions de sites d'injection, mais pas dans un échantillon de viande de la même carcasse. La législation ne permet pas d'établir clairement si dans ce cas, la carcasse entière doit être rejetée ou si un rejet partiel peut suffire pour offrir les garanties nécessaires en matière de sécurité alimentaire. C'est dans ce contexte que l'avis du Comité scientifique est sollicité.

1.1. Questions posées

Il est demandé au Comité scientifique de répondre aux questions suivantes :

1. Les résidus de substances bactériostatiques peuvent être détectés via un test rénal, dans les lésions de sites d'injection et dans des échantillons de viande. Quelles sont les analyses dont il est préférable de tenir compte pour prendre une décision d'expertise ?
- 2a. Pour déclarer la viande impropre à la consommation humaine, détecter des résidus de substances pharmacologiquement actives (au-delà de la LMR au cas où il s'agit de substances autorisées) au niveau d'une lésion d'un site d'injection, même en cas de résultat négatif (en dessous de la LMR au cas où il s'agit de substances autorisées) dans la viande, est-il suffisant ?
- 2b. Dans ce cas, doit-on déclarer la carcasse entière comme impropre, ou un rejet partiel peut-il suffire ?
- 2c. Si un rejet partiel suffit, quelles conditions doivent être respectées ? Doit-on rejeter uniquement la lésion d'injection ou l'entièreté du groupe musculaire où se trouve la lésion d'injection, ou y a-t-il encore d'autres approches possibles ?

1.2. Contexte légal

En ce qui concerne la détection et la procédure en cas de détection de substances bactériostatiques, les dispositions réglementaires suivantes sont d'application :

- Règlement (CE) 2377/90 du Conseil du 26.06.1990 établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale;
- Règlement (CE) 854/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29.04.2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine;
- Directive 96/23/CE du Conseil du 29.04.1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits et abrogeant les

- directives 85/358/CEE et 86/469/CEE et les décisions 89/187/CEE et 91/664/CEE;
- l'arrêté royal du 22 décembre 2005 fixant des mesures complémentaires pour l'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine;
 - l'arrêté ministériel du 18 décembre 1973 déterminant les techniques de laboratoire pour la recherche des résidus de substance à effet bactériostatique (modifié par l'arrêté ministériel du 19 juin 1995);
 - l'arrêté royal du 08 septembre 1997 relatif aux mesures en matière de commercialisation des animaux d'exploitation en ce qui concerne certaines substances ou résidus de substances pharmacologiquement actives;
 - l'arrêté ministériel du 10 septembre 1997 portant exécution de l'arrêté royal relatif aux mesures en matière de commercialisation des animaux d'exploitation en ce qui concerne certaines substances ou résidus de substances pharmacologiquement actives.

1.3. Définitions et/ou hypothèses

Dans le cadre de cet avis, le Comité scientifique applique les définitions et hypothèses suivantes :

- Un site d'injection est la partie du corps de l'animal où un médicament vétérinaire a été injecté (EMEA, 2004). Si une réaction inflammatoire apparaît à la suite de l'injection, ceci donne lieu à une lésion d'injection.
- Le Comité scientifique ne considère pas les abattages de nécessité, mais traite uniquement de l'expertise de routine des animaux de boucherie.
- Le Comité scientifique considère uniquement les substances pharmacologiquement actives autorisées.

1.4. Informations scientifiques supplémentaires

Les lésions d'injection sont fréquemment décrites dans la littérature et sont davantage rencontrées chez les vaches laitières que chez le bétail viandeux. Aux Etats-Unis, lors de la découpe de carcasses acceptées (pour la consommation), on trouve des lésions d'injection respectivement dans 26 et 49% des carcasses de bétail viandeux et de bétail laitier (Roeber et al., 2003). Ces résultats sont du même ordre que ceux observés par des chercheurs canadiens (Van Donkersgoed et al., 1999; Van Donkersgoed et al. 2000). Par contre, Lefebvre et al. (1997) ont observé que l'incidence des lésions d'un site d'injection chez les bovins est de 10,2%. Chez les porcs, on trouve également des lésions d'injection, mais avec une plus faible prévalence. En Belgique, en 2005 et 2006, on a trouvé des lésions externes d'injection chez respectivement 0,5 et 0,3% des porcs de boucherie.

En outre, il faut signaler que les autorités des Etats-Unis, du Canada et de l'Australie excluent les sites d'injection pour la fixation des valeurs de LMR (Reeves, 2007).

A l'examen histologique des lésions d'injection, il s'est avéré que ces lésions peuvent s'étendre jusqu'à 5,06 cm du centre du site d'injection (George et al., 1995). En règle générale, les dégâts les moins importants sont remarqués après une injection sous-cutanée ou après injection au niveau du cou (méthode européenne d'injection), en comparaison avec l'injection dans la hanche et dans la fesse (méthode américaine d'injection). Les lésions étaient également

moindres en cas d'injection d'une quantité de 10 ml qu'avec une quantité de 20 ml. C'est surtout après l'injection de Trimethoprim-sulfa et de Florfenicol chez des bovins de 15 à 18 mois que des lésions d'injection étaient très fréquemment détectées (jusque dans respectivement 98 et 92% des cas) (Van Donkersgoed et al., 2000). Il s'est, en outre, avéré qu'en cas d'utilisation de préparations d'oxytétracycline longue action, un délais d'attente de 28 jours après l'injection ne suffisait pas à rendre la viande exempte de résidus au niveau du site d'injection (Van Donkersgoed et al., 1999).

Une estimation quantitative de l'exposition du consommateur à la viande provenant de sites d'injection a démontré que dans l'Union européenne, un consommateur consomme au maximum 4 fois par an un site d'injection ou une partie d'un site d'injection. En outre, 37% des consommateurs dans l'Union européenne ne consommeront pas de viande provenant de sites d'injection dans un laps de temps d'une année. Le risque de la consommation de viande provenant d'un site d'injection est donc plutôt aigu que chronique (Sanquer et al. 2006).

Considérant les discussions menées pendant les réunions de groupe de travail des 19 octobre et 12 décembre 2007 et en séance plénière du 15 février 2008 ;

le Comité scientifique émet l'avis suivant :

2. Avis

2.1. Question 1 : Les résidus de substances bactériostatiques peuvent être détectés via un test rénal, dans les lésions de sites d'injection et dans des échantillons de viande. Quelles sont les analyses dont il est préférable de tenir compte pour prendre une décision d'expertise ?

Le Comité scientifique estime que le test rénal belge reste une méthode valable pour le pré-screening des carcasses quant à la présence de substances bactériostatiques. Ce test permet de démontrer l'activité bactériostatique d'une gamme étendue d'antibiotiques. Le test rénal belge a pour avantage d'être plus simple et moins coûteux que d'autres tests microbiologiques d'inhibition comme la méthode 4 plaques (Koenen-Dierick et al., 1995). Le Comité scientifique recommande que l'expert examine la carcasse à fond quant à la présence de lésions d'injection lorsqu'il y a des indications selon lesquelles l'animal a subi une maladie récente et est susceptible d'avoir reçu une antibiothérapie ou lorsque la réglementation impose un examen obligatoire.¹

Si le résultat du test rénal belge est négatif, l'analyse de l'échantillon de viande donnera également un résultat négatif. Par conséquent, une analyse de l'échantillon de viande quant à la présence d'antibiotiques ne fournira pas d'informations supplémentaires et il est inutile de faire procéder à cette analyse. La carcasse, dans ce cas, doit être acceptée.

¹ La présence d'un document IEV-20 ou d'une attestation établie conformément à l'AM du 10 septembre 1997 sur laquelle des médicaments sont mentionnés pour lesquels le temps d'attente n'est pas écoulé, donne toujours lieu à un échantillonnage suspect avec analyses visant la détection de résidus de ces médicaments (Note DG Contrôle, CONT/2003/57/36852).

Si le test rénal est positif, un échantillon de viande doit être analysé par la méthode 4 plaques. Si l'on obtient un résultat négatif avec cette dernière méthode, la carcasse doit être acceptée pour la consommation. Toutefois, si la présence de substances bactériostatiques est démontrée avec cette méthode 4 plaques, il y a lieu de procéder à une confirmation via une analyse physico-chimique. A cet effet, des informations concernant le type de composé qui peut être présent doivent être fournies, notamment à partir du registre des médicaments de l'exploitation agricole. Sur base de cette analyse, on doit vérifier si l'échantillon de viande contient une concentration en une substance bactériostatique supérieure ou inférieure à la LMR. Si la concentration de la substance bactériostatique dans l'échantillon de viande est inférieure à la LMR, la carcasse est acceptée, mais les organes doivent être rejetés. Si la concentration de la substance bactériostatique dans l'échantillon de viande est supérieure à la LMR, la carcasse doit être rejetée. Quand, dans des situations exceptionnelles, la substance bactériostatique n'est pas identifiée dans l'échantillon de viande, le Comité scientifique conseille de rejeter la carcasse suspecte de contenir une substance bactériostatique qui n'est pas notée dans le registre ou une substance qui n'est pas autorisée. Cette mesure est nécessaire pour garantir la sécurité de la chaîne alimentaire. Une représentation schématique de la procédure décrite est donnée dans la figure 1 (voir annexe).

Indépendamment de ce qui précède, en présence d'une lésion d'injection, celle-ci doit toujours être prélevée en même temps qu'un échantillon de viande et être impliquée dans l'analyse. Si l'on veut établir de façon scientifiquement justifiée un dépassement de la LMR, il est recommandé de suivre les prescriptions de la directive de l'EMEA². La procédure décrite dans cette directive est appliquée pour déterminer les délais d'attente sur base d'un échantillon d' environ 500 g autour du cœur de la lésion et d'un deuxième échantillon du tissu environnant d'environ 300 g. Il ressort de la pratique que l'échantillon comprenant le site d'injection a un délais d'attente plus long que le tissu environnant. Par conséquent, le Comité scientifique estime que pour la constatation d'un dépassement de la LMR dans une lésion d'injection, on doit toujours prélever un échantillon d' environ 500 g autour du cœur de la lésion. Si un échantillon plus petit est prélevé (par ex. 100 g), centralisé autour de la lésion d'injection, cela peut donner lieu à des concentrations plus élevées de la substance bactériostatique, et par conséquent à la conclusion erronée que le délais d'attente n'a pas été respecté. En outre, ces lésions d'injection contiennent fréquemment des résidus de substances pharmacologiquement actives, et l'enlèvement suffisant de ces lésions d'injection permet d'éliminer une quantité importante de ces résidus. D'autre part, la Décision européenne 98/179/CE³ stipule que chaque échantillon pour la recherche de résidus doit être suffisamment grand pour permettre aux laboratoires agréés de procéder à toutes les analyses qui sont nécessaires pour le screening et la confirmation. Un échantillon d'une lésion d'injection qui n'est pas prélevé selon les règles de la directive de l'EMEA ne permet pas d'établir une conclusion valable à propos du dépassement de la LMR et par conséquent, un échantillon de viande doit être analysé.

Si la concentration de la substance bactériostatique dans la lésion d'injection est supérieure à la LMR, l'échantillon de viande doit être analysé. Si la concentration est

² Cette directive prescrit de découper la lésion d'injection en 2 parties. On doit d'abord prélever un échantillon d' environ 500 g au cœur, centré autour du site d'injection. Il doit avoir la forme d'un cylindre (10 cm de diamètre et 6 cm de profondeur pour les injections intramusculaires ou 15 cm de diamètre et 2,5 cm de profondeur pour les injections sous-cutanées). En outre, il faut encore prélever un deuxième échantillon du tissu environnant (environ 300 g).

³ Décision de la Commission du 23 février 1998 fixant les modalités de prise d'échantillons officiels pour la recherche de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits.

inférieure à la LMR, la carcasse doit être acceptée, mais les organes doivent être considérés comme impropres à la consommation humaine.

2.2. Question 2a : Pour déclarer la viande impropre à la consommation humaine, détecter des résidus de substances pharmacologiquement actives (au-delà de la LMR au cas où il s'agit de substances autorisées) au niveau d'une lésion d'un site d'injection, même en cas de résultat négatif (en dessous de la LMR au cas où il s'agit de substances autorisées) dans la viande, est-il suffisant ?

Le Comité scientifique estime que l'on ne peut se prononcer sur le dépassement de la LMR dans les lésions d'injection que si l'échantillon a été prélevé selon la directive de l'EMEA, à savoir environ 500 g autour du cœur de la lésion. Si la concentration en substance pharmacologiquement active dépasse la LMR dans la lésion d'injection alors que la concentration dans l'échantillon de viande est inférieure à la LMR, on peut dire que, sur base du résultat de l'échantillon de viande, une partie de la carcasse est toujours propre à la consommation. Les organes doivent toutefois être rejetés vu leur concentration accrue en substances pharmacologiquement actives.

2.3. Question 2b : Dans le cas où des résidus de substances pharmacologiquement actives sont détectés (au-delà de la LMR s'il s'agit de substances autorisées) au niveau d'une lésion d'un site d'injection, même en cas de résultat négatif (en dessous de la LMR au cas où il s'agit de substances autorisées) dans la viande, doit-on déclarer la carcasse entière comme impropre à la consommation humaine, ou un rejet partiel peut-il suffire ?

Le Comité scientifique estime que d'un point de vue scientifique, un rejet partiel de la carcasse suffit, car les résidus dans la viande sont inférieurs à la LMR et que par conséquent, les garanties nécessaires sont offertes en matière de sécurité alimentaire. Les organes doivent toutefois être rejetés.

2.4. Question 2c : Si un rejet partiel suffit, quelles conditions doivent être respectées ? Doit-on rejeter uniquement la lésion d'injection ou l'entièreté du groupe musculaire où se trouve la lésion d'injection, ou y a-t-il encore d'autres approches possibles ?

Le Comité scientifique estime que l'enlèvement de la lésion d'injection seule est insuffisant, étant donné que, sur base d'une lésion d'injection positive, on ne dispose pas d'informations sur la présence de résidus dans la viande entourant la lésion. Le Comité scientifique part de l'hypothèse qu'il s'agit de médicaments enregistrés. Ces produits sont normalement administrés au niveau du cou et la lésion d'injection se trouvera par conséquent souvent dans la région du cou. Dans ce cas, tout le cou jusqu'à la poitrine doit être enlevé. Si la lésion d'injection se trouve en dehors de la région du cou, il faut enlever, par mesure de précaution, le quartier correspondant. S'il y a plusieurs lésions d'injection, on doit enlever, pour chaque lésion d'injection, le cou ou le quartier.

On trouve à la figure 2 une représentation schématique de la procédure recommandée lorsqu'on trouve une lésion d'injection (voir annexe).

3. Conclusion

Le Comité scientifique estime qu'il est important de découper suffisamment largement les lésions d'injection présentes (selon la directive de l'EMEA). Cette directive est en effet appliquée pour la détermination des délais d'attente, et le prélèvement d'un petit échantillon peut donner lieu à une concentration plus élevée de la substance recherchée et à une décision erronée de déclaration de la carcasse impropre à la consommation humaine. En outre, les lésions d'injection contiennent souvent des résidus, et le fait de découper suffisamment largement ces lésions d'injection permet d'éliminer une partie importante de ces résidus. Le Comité scientifique est d'avis qu'un rejet partiel d'une carcasse suffit si la LMR est dépassée dans la lésion d'injection mais non dans l'échantillon de viande. La détection d'une lésion d'injection doit toutefois toujours mener à déclarer les organes impropres à la consommation humaine.

Pour le Comité scientifique,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert
Président

Bruxelles, le 11 mars 2008

Références

Beechinor J.G., Buckley T. and Bloomfield F.J. 2001. Prevalence and public health significance of blemishes in cuts of Irish beef. *The Veterinary Record*, 149, 43-44.

European Medicines Agency (EMA) - Committee for veterinary medicinal products (CVMP). 2004. Guideline on injection site residues. EMA/CVMP/542/03-FINAL. 11p.

George M.H., Morgan J.B., Glock R.D., Tatum J.D., Schmidt G.R., Sofos J.N., Cowman G.L. and Smith G.C. 1995. Injection-site lesions: incidence, tissue histology, collagen concentration, and muscle tenderness in beef rounds. *Journal of Animal Science*, 73, 3510-3518.

Koenen-Dierick K., Okerman L., De Zutter L., Degroodt J.M., Van Hoof J. and Srebrnik S. 1995. A one-plate microbiological screening test for antibiotic residue testing in kidney tissue and meat: an alternative to the EEC four-plate method? *Food Additives and Contaminants*, 12, 77-82.

Lefebvre et al. 1997. Evaluation and mechanisms of tolerance of locally administered drugs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 20, Suppl 1, 318-322.

Reeves P.T. 2007. Residues of veterinary drugs at injection sites. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 30, 1-17.

Roeber D.L. 2003. Meat quality and dairy veterinary practice. Proceedings of the Minnesota Dairy Health Conference.
<http://www.cvm.umn.edu/img/assets/9090/meat%20quality%20roeber%202003.pdf>.

Sanquer A., Wackowicz G. and Havrileck B. 2006. Qualitative assessment of human exposure to consumption of injection site residues. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29, 345-353.

Van Donkersgoed J., Dubeski P.L., Vanderkop M., Aalhus J.L., Bygrove S. and Starr W.N. 2000. The effect of animal health products on the formation of injection site lesions in subprimals of experimentally injected beef calves. *Canadian Veterinary Journal*, 41, 617-622.

Van Donkersgoed J., Vanderkop M., Salisbury C., Sears L. and Holowath J. 1999. The effect of administering long-acting oxytetracycline and tilmicosin either by dart gun or by hand on injection site lesions and drug residues in beef cattle. *Canadian Veterinary Journal*, 40, 583-587.

Membres du Comité scientifique

Le Comité scientifique est composé des membres suivants :

V. Baeten, D. Berkvens, C. Bragard, P. Daenens, G. Daube, J. Debevere, P. Delahaut, K. Dierick, R. Ducatelle, L. Herman, A. Huyghebaert, H. Imberechts, L. Pussemier, B. Schiffers, E. Thiry, J. Van Hoof, C. Van Peteghem

Remerciements

Le Comité scientifique remercie le secrétariat scientifique et les membres du groupe de travail pour la préparation du projet d'avis. Le groupe de travail était composé des personnes suivantes :

Membres du Comité scientifique

Experts externes

J. Van Hoof (rapporteur), P. Delahaut, K. Dierick, H. Imberechts, C. Van Peteghem
S. Croubels, L. Laurier

Cadre juridique de l'avis

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 27 mars 2006.

Disclaimer

Le Comité scientifique se réserve à tout moment le droit de modifier cet avis si de nouvelles informations et données arrivent à sa disposition après la publication de la présente version.

Annexes

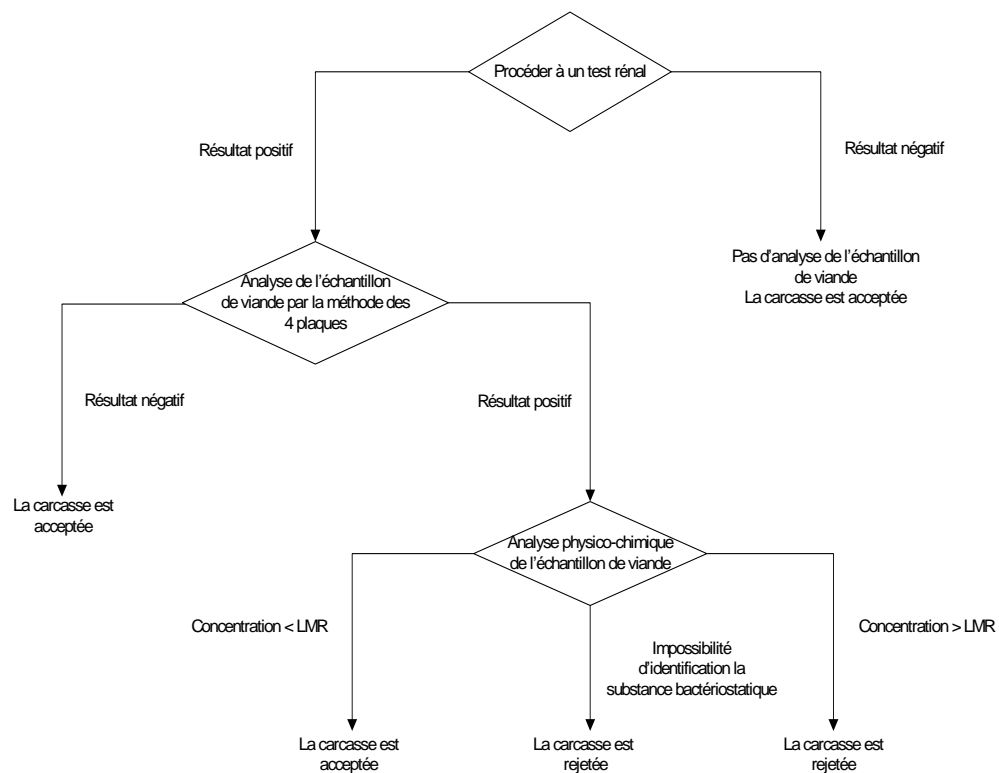


Figure 1 : Représentation schématique de la procédure recommandée lors de la réalisation d'un test rénal comme décrit dans le paragraphe 2.1 (LMR: Limit maximale de résidus)

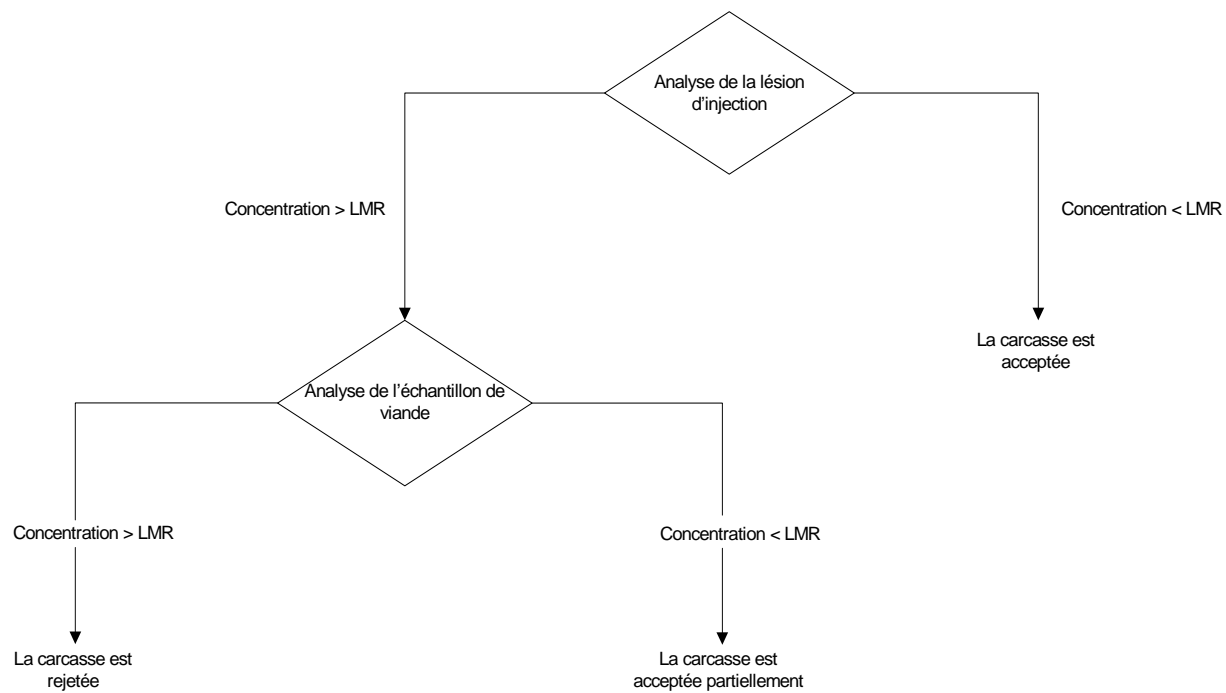


Figure 2: Représentation schématique de la procédure recommandée en présence d'une lésion d'injection comme décrit dans les paragraphes 2.1 et 2.3 (LMR: Limit maximale de résidus)