



AVIS 19-2008

Concerne: Méthodologie pour la mesure de la contamination croisée dans les aliments pour animaux (dossier Sci Com 2007/24bis)

Avis approuvé par le Comité scientifique le 9 mai 2008.

Résumé

Il est demandé au Comité scientifique d'évaluer l'efficacité de la méthode microtraceur pour la mesure de l'homogénéité et de la contamination croisée dans les aliments pour animaux et de comparer cette méthode avec trois autres méthodes basées sur l'utilisation de la salinomycine-sodium, du cobalt et d'un mélange manganèse-protéines.

Le Comité scientifique s'est basé sur les résultats du projet européen «Cross Conta» pour la rédaction de l'avis. Les recommandations de ce projet sont: i) l'emploi du microtraceur pour l'estimation de l'homogénéité et de la contamination croisée dans la plupart des cas, ii) l'emploi du cobalt pour le contrôle des prémélanges, iii) l'emploi de yttrium pour le contrôle des aliments pour animaux dans des conditions de production de hautes températures, pressions et des traitements à la vapeur.

Le Comité scientifique estime qu'il n'existe actuellement pas de méthode optimale pour la mesure de l'homogénéité des mélanges d'aliments pour animaux et de la contamination croisée d'installations fabriquant des aliments pour animaux. Chacune des méthodes proposées a ses limitations et ses manquements. Cependant, la méthode microtraceur pourrait être préconisée dans la plupart des cas à condition que sa robustesse soit documentée pour l'application envisagée et que des laboratoires agréés et accrédités pour l'analyse du traceur soient disponibles en Belgique.

Summary

Advice 19-2008 of the Scientific Committee of the FASFC: evaluation of a methodology to measure cross-contamination in feed (Dossier 2007/24bis)

The Scientific Committee is asked to evaluate the effectiveness of the microtracer method to measure the homogeneity and cross-contamination in feed and to compare this method with three other methods based on the use of salinomycine-sodium, cobalt and a manganese-protein mixture.

The Scientific Committee based its advice on the results of the European "Cross-Conta" project. In this project it is recommended: i) to use, in most cases, the microtracer to evaluate feed for homogeneity and cross-contamination controls, II) to use cobalt for premix controls, III) to use yttrium for the control of feed in production circumstances in which high temperature, pressure or vapour treatment are used.

The Scientific Committee is of the opinion that currently no optimal method exists to measure the homogeneity of feed mixtures and the cross-contamination of feed manufacturing installations. Each proposed method has its own limitations and shortcomings. However, the microtracer method might be recommended in most cases provided that its robustness is documented for the planned application and that approved and accredited laboratories for the analysis of the tracer are available in Belgium.

Mots clés

Contamination croisée, microtraceur, méthodologie, homogénéité

1. Termes de référence

1.1. Questions

Il est demandé au Comité scientifique:

- 1) d'évaluer au niveau scientifique la méthode de mesure de l'homogénéité et de la contaminations présentée dans l'annexe technique «Contamination croisée» (version 23/10/2007), ainsi que dans une partie du guide autocontrôle pour le secteur alimentation animale;
- 2) d'évaluer au niveau scientifique l'efficacité de la méthode pour la mesure de la contamination croisée au moyen d'un microtraceur (RF-Blue lake) qui est basée sur les résultats des expériences effectuées au sein de 2 entreprises d'aliments pour animaux;
- 3) d'analyser l'efficacité de la valeur de la méthode pour mesurer la contamination croisée au moyen d'un microtraceur (RF-Blue lake) par rapport aux trois autres méthodes qui ont été reprises dans l'annexe «contamination croisée», à savoir une méthode avec du cobalt, une méthode avec de la salinomycine-sodium et une méthode avec un mélange manganèse-protéines.

Vu les discussions durant les réunions de groupe de travail du 29 août 2007, 19 novembre 2007, 17 mars 2008 et la séance plénière du 9 mai 2008,

le Comité scientifique émet l'avis suivant :

2. Introduction

Pour évaluer la méthodologie théorique de mesure de l'homogénéité et de la contamination croisée, le Comité scientifique a reçu une annexe technique (version 23/10/2007). A côté de ce dossier, le Comité scientifique a reçu une demande d'avis concernant l'évaluation du guide d'autocontrôle pour le secteur de l'alimentation animale. Un avis a été donné sur ce guide (Avis 37-2007). Ce guide contient une annexe 8, qui traite de la contamination croisée. Cette annexe est semblable à l'annexe technique mais ne contient pas d'informations concernant la méthode microtraceur pour mesurer la contamination croisée. De ce fait, le Comité scientifique a considéré uniquement la méthode microtraceur présentée dans l'annexe technique.

L'annexe technique décrit plusieurs méthodes pour mesurer l'homogénéité et la contamination croisée dans les aliments pour animaux, à savoir une méthode avec du cobalt, une méthode avec de la salinomycine-sodium, une méthode avec un microtraceur (F, FSS et RF) et une méthode avec un mélange manganèse-protéines.

Un microtraceur est constitué de particules de fer recouvertes d'un colorant alimentaire (food grade). Il existe plusieurs sortes de microtraceurs disponibles pour l'analyse de l'homogénéité et de la contamination croisée: microtraceur F, FSS et RF.

Les différences entre les microtraceurs concernent:

- la granulométrie,
- le nombre de particules de traceur par gramme d'aliment,
- les sortes de recouvrement (coating),
- les colorants utilisés.

Le microtaceur F est composé de particules de fer dont la distribution des tailles est comprise entre 150 et 300 µm. Le microtracteur FSS est plus fin avec une distribution de taille allant de 75 à 150 µm.

Le Comité scientifique a, dans le cadre de l'évaluation du guide d'autocontrôle pour le secteur de l'alimentation animale, déjà évalué une version précédente (version du 9/06/2005) de l'annexe technique «Contamination croisée» (Avis 55-2005).

Le Comité scientifique, pour la préparation de l'avis, s'est appuyé sur les résultats d'un projet européen de recherche et de développement, intitulé «Homogeneity and cross-contamination measurement in feed industry (Cross Conta)» qui a été réalisé dans le 5^{ème} programme cadre. Ce projet européen avait pour objectif initial de mettre au point une méthode pour la mesure de l'homogénéité et de la contamination croisée dans les industries productrices d'aliments pour animaux pour remplacer les méthodes existantes qui souffrent de limitations et de désavantages et de fournir une méthode commune en Europe. Plusieurs méthodes de mesures de l'homogénéité et de la contamination croisée ont été testées et comparées dans le cadre de ce projet.

3. Avis

3.1. Evaluation au niveau scientifique de la méthodologie théorique présentée dans l'annexe technique «Contamination croisée»

Le Comité scientifique fait remarquer, en premier lieu, qu'il existe certaines contradictions, entre l'annexe technique et l'annexe 8 du guide d'autocontrôle pour le secteur des aliments pour animaux.

Ainsi, au tableau 1 de l'annexe technique, un facteur multiplicateur de 2 est mentionné lorsque le facteur d'adhésion aux parois est inférieur à 1. Or, à l'annexe 8 du guide, un facteur multiplicateur de 1 est mentionné. Les facteurs mentionnés dans ces deux tableaux devraient être revus et une référence bibliographique devrait être mentionnée pour ces tableaux.

De même, les facteurs multiplicateurs présentés dans les tableaux, au point 4, pour les prémélanges médicamenteux et pour les additifs ne sont pas les mêmes que ceux renseignés à l'annexe 8 du guide. Les facteurs mentionnés dans ces deux tableaux devraient être revus et une référence bibliographique devrait être ajoutée.

Le Comité scientifique estime que la signification des valeurs des facteurs d'adhésion aux parois devrait être documentée afin de permettre l'interprétation des résultats du test du facteur d'adhésion aux parois.

Le Comité scientifique recommande que le test d'adhésion aux parois tienne compte du risque de dégradation des substances (p. ex. le monensin se dégrade assez rapidement).

3.1.1. Remarques sur l'annexe technique

Le document est très technique et peu convivial. Le texte devrait être simplifié pour permettre une lecture aisée et compréhensible par les opérateurs du secteur.

- ***Contamination croisée minimale et contamination croisée maximale***

Il est fait mention de la «contamination croisée minimale» et du «niveau de contamination croisée maximale autorisée» sous le point définissant le facteur multiplicateur (Partie I. Définitions). Suivant l'annexe, la notion de «contamination croisée minimale» représente le niveau de contamination qui doit au minimum être pris en compte lors de la détermination du nombre de charges de rinçage. La notion de «contamination croisée maximale» désigne les limites d'action à prendre en compte pour juger de la conformité d'un aliment. Ces notions devraient être précisées dans le texte et les limites d'action définies.

- ***Remarques sur la méthode microtraceur***

Au point II.2.1. «Procédures générales pour le test de contamination croisée dans la préparation des aliments composés avec l'aide d'un traceur», il est mentionné que 4 charges sont nécessaires lorsque la salinomycine-sodium est utilisée comme traceur. Deux charges sont nécessaires au conditionnement de l'installation, c.à.d. à la mise au point des bonnes conditions de température, pH, etc. Il est également mentionné que pour les microtraceurs F ou FSS (lake) et le microtraceur RF blue (lake), deux charges sont nécessaires.

Suivant le protocole d'essai de Tecaliman, deux lots d'aliments contenant le traceur (microtraceur RF) sont fabriqués successivement. Des échantillons du second lot sont prélevés en sortie de mélangeur. Un lot ne contenant pas le traceur est fabriqué ensuite sur la ligne de production. Pour être en conformité avec le protocole de Tecaliman, l'installation devrait être conditionnée avec le traceur avant d'effectuer les tests d'homogénéité et de contamination croisée. Le tableau 1 (Nombre de charges par procédure de contrôle) devrait être modifié en ce sens.

Il existe plusieurs sortes de microtraceurs disponibles pour l'analyse de l'homogénéité et de la contamination croisée (microtraceur F, FSS et RF). Le Comité scientifique estime que les spécificités (caractéristiques physiques (taille des particules, densité), nombres de particules, ...) des microtraceurs RF, F et FSS et des autres traceurs devraient être mentionnés explicitement. De manière plus générale, les caractéristiques principales (caractéristiques

physico-chimiques, pureté, taille des particules, densité, ...) de chaque traceur devraient être décrites et ce de manière plus étendue que dans le tableau 3. Lors des tests effectués en laboratoire sur le comportement du traceur dans le mélange, réalisés dans le cadre d'un projet européen «Cross Conta» (2007), l'effet du nombre de particules de traceur sur les variations analytiques a été observé.

Il existe encore des imprécisions sur la méthode qui utilise le microtraceur non seulement pour ce qui concerne les spécificités techniques des différentes sortes de microtraceur (emploi du colorant, stabilité du recouvrement des particules, dimension des particules), mais aussi pour ce qui concerne la méthode de récupération du microtraceur au moyen d'un aimant dans les aliments. Le rapport du projet «Cross Conta» suggère que la stabilité n'est pas garantie si l'humidité est impliquée dans le processus de mélange. C'est pourquoi, le Comité scientifique recommande également que la méthode microtraceur soit davantage validée pour sa robustesse.

- *Point II. 2.1.5.5.1. Prise d'échantillons*

Il faudrait préciser que les points de prélèvement doivent être choisis de préférence dans un flux passant. Un minimum de 20 échantillons de la charge B (aliment contenant le mélange du traceur) doit être prélevé. Un minimum de 10 échantillons doit être analysé pour la détermination de l'homogénéité. Il faudrait préciser que pour le test d'homogénéité, les 10 échantillons doivent être extraits de l'ensemble des échantillons collectés de manière à représenter l'ensemble du lot.

- *Point 2.1.5.2. Traitement de l'échantillon et destination*

Au point 5, une formule pour la détermination de la concentration moyenne pondérée des échantillons de la charge C est établie pour un minimum de 30 échantillons prélevés. Cette formule pourrait être rendue plus générale étant donné que plus de 30 échantillons peuvent être prélevés. De plus, pour éviter toute confusion avec la numérotation des échantillons individuels, il serait préférable de nommer les échantillons regroupés Ca (pour les échantillons C1 et C2, au lieu de C1), Cb (pour les échantillons du milieu, au lieu de C2) et Cc (pour les 6 derniers échantillons au lieu de C3).

La formule mentionnée dans le protocole d'essai de Tecaliman pourrait être reprise, à savoir $C = (Ca^2 + Cb \cdot (n-8) + Cc \cdot 6) / n$ ou n est le nombre total d'échantillons de la charge C prélevée.

- *Point II.2.1.6. Traitement des résultats*

Au point II.2.1.6.4. «uniformité du matériau: microtraceur F et FSS», deux exemples d'évaluation de l'homogénéité du mélange sont présentés pour les microtraceurs F et FSS. Les exemples sont des extrêmes. Le premier exemple montre un mélange homogène et le second un mélange hétérogène. Ces deux exemples sont théoriques. Le Comité scientifique estime que ces deux exemples devraient être remplacés par des exemples plus représentatifs de la réalité de tous les jours.

- **Remarques sur les autres méthodes**

- *Méthode cobalt*

Pour la méthode «Cobalt», il est recommandé, dans l'annexe technique, de diluer un aliment contenant du cobalt de manière à ce que la concentration en cobalt dans l'aliment destiné au commerce ne dépasse pas la limite maximale fixée à 2 ppm. Le Comité scientifique fait remarquer que la dilution n'est pas acceptable.

- *Méthode avec la salinomycine*

Le Comité scientifique fait remarquer que la méthode d'analyse de la salinomycine doit avoir une limite de détection suffisamment basse pour pouvoir déterminer la contamination croisée. Si la méthode a une sensibilité de 5 %, cela signifie que la contamination croisée mesurée sera d'au moins 5%.

La salinomycine est autorisée à une dose maximale de 70 mg/kg. Il est indiqué que la méthode doit satisfaire à une limite de détection de 0,5% de la dose appliquée. La limite de détection serait par conséquent de 0,35 mg/kg. Il est remarqué que les techniques d'analyses actuelles permettent de détecter la salinomycine jusqu'à des teneurs de 1 µg/kg.

Il est recommandé, dans l'annexe technique, de diluer un aliment contenant de la salinomycine de manière à ce que la concentration en salinomycine dans l'aliment destiné au commerce ne dépasse pas la teneur maximale autorisée. Le Comité scientifique fait remarquer que la dilution n'est pas acceptable.

- *Méthode avec du carbonate de cobalt*

En ce qui concerne l'analyse du mélange de carbonate de cobalt après la réalisation du test de contamination croisée, le Comité scientifique conseille de faire exécuter l'analyse du carbonate de cobalt dans les échantillons par un laboratoire accrédité (Avis-55-2005).

- *Prémélange*

Le Comité scientifique estime qu'une définition de «contamination directe» et «contamination indirecte» est nécessaire. Cette remarque avait déjà été formulée dans l'Avis 55-2005.

Il ressort du rapport du projet «Cross Conta» (2007) que les méthodes avec la salinomycine-sodium et avec le mélange manganèse-protéines ne sont plus recommandées. Seule la méthode avec le carbonate de cobalt est encore recommandée comme traceur pour les prémélanges. Le rapport mentionne que les traceurs les plus prometteurs sont l'yttrium et l'ytterbium sous la forme d'oxyde. Le facteur limitant est ici la capacité d'analyse, pour lequel des appareils plus sophistiqués (ICP-AES, Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy ou analyse par activation neutronique ou d'autres méthodes similaires) sont nécessaires. Ces techniques d'analyses sont réalisables en Belgique. Vu la faible fréquence de contrôle de la contamination croisée (1 fois par an lors de modifications importantes, un fois tous les deux ans et même un fois tous les 4 ans sous certaines circonstances), ceci n'est pas un problème insurmontable. Le Comité scientifique recommande d'ajouter ces deux méthodes alternatives modernes (yttrium et ytterbium) à l'annexe technique «contamination croisée».

3.2. Evaluation scientifique de l'efficacité de la méthode pour la mesure de la contamination croisée au moyen d'un microtraceur

Le Comité scientifique a pris connaissance des résultats des tests de mesure de l'homogénéité et de la contamination croisée effectuées avec la méthode microtraceur (RF-Blue lake) effectuées au sein de 2 entreprises d'aliments pour animaux.

Le Comité scientifique fait remarquer que les critères d'homogénéité doivent être satisfaits pour effectuer le test de contamination croisée.

Le Comité scientifique émet des réserves sur les tests statistiques utilisés. Il estime que le test statistique pour l'homogénéité devrait en premier lieu mieux définir le terme «mélange homogène». Les questions suivantes sont posées:

- Quelle distribution de probabilité est prise comme hypothèse nulle (H_0) pour un mélange homogène (distribution uniforme, distribution Poisson, distribution multinomiale) ? La formule qui est utilisée maintenant, se base sur une distribution Poisson ($\mu = \sigma^2$). Une référence devrait être donnée pour le choix de cette distribution.
- Quand un mélange n'est-il plus homogène ?

Il est essentiel de répondre à ces deux questions de base pour pouvoir développer un test statistique correct.

Il manque une hypothèse nulle. Pour l'instant, l'homogénéité d'un mélange est essentiellement testée avec une méthode peu sensible, qui en plus, pour les petites tailles d'échantillons offre une probabilité relativement faible de démontrer des déviations significatives. L'hypothèse nulle correcte doit être: le mélange n'est pas homogène. Pour cela,

un design maximum de l'hétérogénéité doit être défini ainsi que la fiabilité exigée. Ensuite, le nombre d'échantillons pourra être déterminé pour tester cette hypothèse.

L'incertitude sur l'homogénéité doit être réduite autant que possible. Au préalable les conditions d'homogénéité doivent être précisées et remplies pour pouvoir effectuer le test de contamination croisée.

Il est difficile d'émettre un avis sur la méthode microtraceur car des disparités peuvent exister entre les microtracteurs. Le microtraceur RF-Blue lake a été testé dans le cadre du projet européen «Cross Conta». Il est mentionné dans les conclusions que l'emploi de ce microtraceur est valable dans presque tous les cas de production pour l'estimation de l'homogénéité et de la contamination croisée.

Le Comité scientifique émet des réserves quant aux capacités d'analyses des laboratoires pour la mesure de microtraceurs en Belgique. Un ou plusieurs laboratoires accrédités et agréés devraient être disposés à analyser le traceur.

3.3. Analyse de la valeur de la méthode microtraceur pour mesurer la contamination croisée par rapport aux trois autres méthodes

Les méthodes de mesure de l'homogénéité et de la contamination croisée avec la salinomycine, le cobalt et le microtraceur sont basées sur le même principe. Elles diffèrent par l'emploi de traceurs différents. La méthode de mesure de l'homogénéité et de la contamination croisée avec le mélange manganèse-protéines est différente.

Le Comité scientifique fait remarquer que ces trois méthodes ne peuvent être comparées entre elles. Le niveau de contamination croisée mesuré diffère pour une même installation et un même aliment d'une méthode à l'autre. D'après les résultats des tests de contamination croisée effectués avec différents traceurs dans une même usine, le projet «Cross Conta» (2007) conclut que la valeur absolue de contamination ne peut pas être considérée seule, mais doit être comparée à une autre valeur. En effet, les expériences ont montré que le niveau de contamination croisée mesuré sera plus élevé si du cobalt est utilisé comme traceur et plus faible si un microtraceur est utilisé.

Le projet européen «Cross Conta» conclut que:

- l'emploi du microtraceur (RF-Blue lake) est valable dans presque tous les cas de production pour l'estimation de l'homogénéité et la contamination croisée.
- le carbonate de cobalt est recommandé pour tester les prémélanges.
- l'emploi de méthylviolet est également possible pour contrôler la production d'aliments pour animaux.
- les traceurs internes, comme les composés médicaux, fournissent une estimation valable de l'homogénéité et de la contamination croisée, mais ne sont pas recommandés car ils sont plus chers et sujets à autorisation, restriction d'usage et évolution des législations.
- l'emploi de 2 nouveaux traceurs qui sont l'yttrium et l'ytterbium, sous leur forme oxyde, donnent de bons résultats pour le contrôle de l'homogénéité et de la contamination croisée. Ces 2 traceurs sont stables pendant le processus de production (résistant à haute température, pression ou traitement à la vapeur). L'yttrium est recommandé de préférence à l'ytterbium car il est moins coûteux.

Les recommandations de ce projet sont: i) l'emploi du microtraceur pour l'estimation de l'homogénéité et de la contamination croisée dans la plupart des cas, ii) l'emploi du cobalt pour le contrôle des prémélanges, iii) l'emploi de yttrium pour le contrôle des aliments pour animaux rencontrant des conditions de hautes températures, pressions et des traitements à la vapeur, car il est stable pendant le procédé industriel.

Le Comité scientifique recommande que les possibilités offertes par la mesure avec l'yttrium et l'ytterbium soient pleinement explorées.

4. Conclusions

Le Comité scientifique a étudié les documents disponibles pour évaluer la méthode de mesure de l'homogénéité et de la contamination croisée avec un microtraceur et la valeur de cette méthode par rapport aux autres méthodes.

Le Comité scientifique estime qu'avant d'effectuer les tests de contamination croisée, il est important de s'assurer que le mélange soit homogène.

Le Comité scientifique se réfère aux conclusions du projet européen «Cross Conta» (2007) pour l'analyse de la valeur de la méthode microtraceur et celles des autres méthodes.

Le Comité scientifique estime qu'il n'existe actuellement pas de méthode optimale pour la détermination de l'homogénéité des mélanges d'aliments pour animaux et de la contamination croisée d'une installation fabriquant des aliments pour animaux. Chacune des méthodes proposées a ces limitations et ces manquements. Cependant, la méthode microtraceur (RF-Blue lake) pourrait être préconisée dans la plupart des cas à condition que sa robustesse soit documentée pour l'application envisagée et que des laboratoires agréés et accrédités pour l'analyse du traceur soient disponibles en Belgique.

Pour le Comité scientifique,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert.
Président

Bruxelles, le 27/05/2008

Références

Cross Conta. 2007. Rapport final (non confidentiel) Cross Conta "Homogeneity and cross-contamination measurement in feed industry. RTD Project QLK5-CT-2002-01383. March 2007. Project funded by the European Community under the 'Quality of Live and Management of Living Resources' programme (1998-2002).

TECALIMAN Fiche N° 29 : 'règles techniques pour l'évaluation du niveau de contaminations croisées entre aliments.

Membres du Comité scientifique

Le Comité scientifique est composé des membres et experts suivants:

V. Baeten, D. Berkvens, C. Bragard, J-P. Buts, P. Daenens, G. Daube, J. Debevere, P. Delahaut, K. Dewettinck, K. Dierick, R. Ducatelle, L. Herman, A. Huyghebaert, H. Imberechts, J. Lammertijn, G. Maghuin-Rogister, L. Pussemier, C. Saegerman, 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 de:

| | |
|--------------------------------|---|
| Membres du Comité scientifique | C. Van Peteghem (rapporteur), V. Baeten, D. Berkvens, P. Delahaut, A. Huyghebaert, L. Pussemier |
| Expert externe | E. Daeseleire |

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 Comité scientifique le 13 janvier 2006.

Disclaimer

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