



Labinfo

Publication destinée aux laboratoires de sécurité alimentaire agréés

- p. 4 Simatic IT Unilab
- p. 6 EMAS
- p. 8 Trichines
- p. 10 Physico-chimie
- p. 14 Organismes Génétiquement Modifiés
- p. 16 Dioxines et DL-PCB
- p. 18 Lait et produits laitiers

AFSCA

CA-Botanique
Food Safety Center,
Boulevard du Jardin botanique 55,
1000 Bruxelles - Belgique



LabInfo

Publication destinée aux laboratoires de sécurité alimentaire agréés

Equipe de rédaction

Dirk Courtheyn, Isabelle Defloor, Mieke De Mits, Conny De Schepper, Alain Dubois, Marc Evrard, Alain Laure, Bert Vandenborre, Mieke Van de Wiele, Marie-Christine Wilem

Ont participé à ce numéro

Geert De Poorter, Marianne Aubry, Veerle Landsheere, Leen Claes, Tina N'Goy, Fabien Bolle, Mirjana Andjelkovic, Joris Van Loco, Vincent Hanot, Isabelle Windal, Stephanie Fraselle, Gilbert Berben, Isabel Taveniers, Marc Van den Bulcke, Huig Vanderperren, Koen De Reu, Véronique Ninane, Wim Reybroeck, Sigrid Ooghe, Els Daeseleire.

Traduction

The NRL
Translation Service of the Agency

Photos et illustrations

Supplied by the laboratories

Mise en page

Gert Van Kerckhove

Secrétariat de rédaction

LabInfo
p.a. D. Courtheyn
AFSCA
CA-Botanique – Food Safety Center
4ème étage, bureau 409
Boulevard du Jardin botanique 55
1000 Bruxelles
Tel 02.211.87.33
dirk.courtheyn@favv.be

Cher lecteur,

A l'heure où vous lisez ces quelques lignes, vous avez certainement déjà profité de vacances bénéfiques et vos batteries sont rechargées pour repartir à plein régime dans la vie professionnelle.

Nous vivons dans une société de connaissances submergée d'informations. De plus en plus, la question n'est plus de savoir si des informations existent sur un sujet particulier mais bien de savoir où trouver ces informations spécifiques. L'Agence alimentaire fédérale accorde beaucoup d'importance à un fonctionnement transparent et à la fourniture d'informations. Cela se fait via différents canaux et s'adresse à différents groupes cibles : les consommateurs et les opérateurs actifs dans l'industrie alimentaire et agricole. Jusqu'à présent, l'Agence alimentaire n'a adressé aucun bulletin spécifique aux laboratoires. Ce premier numéro apporte quelques changements. L'objectif de ce bulletin est de partager régulièrement, avec les laboratoires externes agréés, les informations technico-scientifiques disponibles dans les propres laboratoires AFSCA et au sein des laboratoires de référence communautaires, nationaux et européens.

Ce bulletin électronique constituera alors, avec les groupes de communication, le moyen par excellence pour transmettre rapidement d'importantes connaissances microbiologiques et analytiques aux utilisateurs.

Les groupes de communication dirigés par les laboratoires de référence nationaux doivent aussi être encore plus rationalisés : plus d'interaction émanant des laboratoires externes, plus d'applications pratiques sur le travail réalisé par ces laboratoires de référence pour le compte de l'Agence alimentaire.

J'espère, cher lecteur, que vous apprécierez ce premier numéro de LabInfo. Toute critique constructive en vue de l'amélioration du niveau de qualité du présent bulletin est la bienvenue chez l'éditeur responsable.

Geert De Poorter

Directeur général Laboratoires

Gil Houins

Administrateur délégué

Simatic IT Unilab

2 janvier 2008, jour tant attendu : le nouveau LIMS peut enfin entrer en fonctionnement. Le lancement a été reporté à plusieurs reprises. Mais regardez la NASA, il lui arrive aussi de reporter le lancement d'une navette spatiale pour éviter qu'un projet ne parte « en vrille »...

Tout a commencé après la création de l'Agence alimentaire. La DG Laboratoires était née et cinq labos y étaient rattachés. Il est très vite apparu que le LIMS de l'époque (Laboratory Information Management System) ne satisfaisait plus aux exigences de tous les laboratoires. On recherchait essentiellement un système où toutes les données pourraient être conservées de manière uniforme. L'application devait pouvoir être liée à d'autres banques de données de l'Agence, notamment à Foodnet de la DG Contrôle.

Notre quête a alors commencé...

En mars 2006, nous nous sommes associés à la firme Siemens. Une équipe de configuration a été mise sur pied, sous la direction d'ir. Sacha Diaine, composée de six personnes des trois laboratoires néerlandophones et de l'administration centrale. Siemens leur a donné une formation approfondie. Un grand défi les attendait ensuite. Pendant un an et demi environ, le programme Basic Unilab a été travaillé, testé, modifié et à nouveau travaillé, testé et remodifié pour finalement en arriver au programme actuel.

En premier lieu, il était primordial d'accorder ses violons avec les autres DG, et plus spécifiquement la DG Contrôle et la DG Politique de Contrôle. Toutes les anciennes données (matrices et paramètres possibles) ont été scindées. Toute une série de nouvelles données devaient toutefois encore être ajoutées. Cela a duré environ six mois avant que toutes les données ne soient introduites dans un beau format 'Unilab'.

C'est presque quotidiennement que les membres de l'équipe de configuration continuaient à être formés pour affiner le programme Basic Unilab en fonction des demandes des collaborateurs des cinq labos AFSCA. Avec la collaboration de plusieurs collègues des labos, des centaines de méthodes ont été configurées ; certaines plus complexes que d'autres. Nous avons visé à une automatisation la plus grande possible, de sorte que l'utilisateur final ait moins de travail administratif à effectuer.

Le système Unilab de la DG Laboratoires a été lié à l'application Foodnet de la DG Contrôle. Le contrôleur peut de cette manière exporter ses données d'échantillonnage vers notre LIMS. De ce fait, les centres de dispatching doivent faire face à beaucoup moins de travail administratif !

Après analyse, les résultats sont à nouveau reliés automatiquement à Foodnet par la même voie. Il en résulte une moins grande consommation de papier, moins de fax, une circulation des données plus rapide...

Mais il y avait encore les laboratoires externes... La petite soeur d'Unilab était née : Extlab.

Cette application web indique aux labos externes quels échantillons leur sont destinés. Toutes les informations nécessaires (paramètres, données de facturation) peuvent être consultées via cette application. Après analyse, les labos externes peuvent encoder les résultats via Extlab et les renvoyer vers le système LIMS, qui, à son tour, transmet les données à Foodnet.

De plus, il existe aussi un lien avec la banque de données 'BOOD' et le programme de facturation 'PIA' de la DG Services généraux.

Toutes les données des clients sont lues automatiquement dans le LIMS par le biais du même id BOOD. Toutes les données de facturation sont exportées vers l'application 'PIA'. Après quoi, des spécialistes assurent la suite du suivi de la perception.

Maintenant que le système Unilab est opérationnel depuis environ 6 mois, nous remarquons qu'il a permis d'énormes progrès. En particulier, les tâches administratives pour tous les collaborateurs de la DG Laboratoires se sont vues fortement réduites. Toutes les données possibles et toutes les opérations relatives à un échantillon sont correctement stockées dans une seule grande banque de données.

Il va sans dire que cette application ne sera jamais 'terminée'. L'équipe de configuration continue de travailler au développement de l'application Unilab. Des modifications et améliorations y sont apportées quotidiennement, suivant les souhaits des utilisateurs finaux.

Exemple d'un écran de résultats dans le nouveau LIMS

Paramètre	Status	Résultat	Unité	Garantie	Car. Unité	Low Spec	High S...	WCCalif/C...
E. coli O157 (Infection/VIAS)	Reçu	Absent	CFU/g					
Substrat: monac. (Microbiomex)	Reçu	< 10	cfu/g					

Veerle Landsheere, DG Laboratories
veerle.landsheere@favv.be



EMAS

Le terme d'EMAS (Eco-Management and Audit Scheme) est très à la mode ces derniers mois à l'Agence, mais qu'est-ce que l'EMAS ?

Lors de la conférence des Nations Unies sur l'Environnement et le Développement à Rio, le 14 juin 1992, la Communauté Internationale a adopté un certain nombre d'engagements relatifs à un nouveau mode de développement applicable à l'ensemble de la planète. Parmi ces engagements figure la "Déclaration de Rio sur l'environnement et le développement".

Il s'agit, pour les gouvernements participants, de développer une série de propositions d'actions communes à tous les pays du monde. L'ensemble de ces gouvernements s'engage à traduire ces propositions en décisions concrètes.

Lors de la conférence, a été défini dans le programme " Action 21 ", un ensemble d'actions en 40 chapitres. Le principe de Développement Soutenable, désigné en Europe par le terme "Développement Durable", a également été déterminé.

Selon la définition des Nations Unies, le Développement Durable est un développement qui répond aux besoins du présent sans compromettre les capacités des générations futures à répondre à leurs propres besoins. Cette notion recouvre trois approches : l'économique, le social et l'environnement.

En Belgique, les propositions d'amélioration de l'efficacité et de la cohérence des projets menés au niveau national sont exposées dans un plan révisable tous les quatre ans.

Dans ce contexte, l'EMAS s'inscrit comme étant un des outils permettant d'atteindre certains des objectifs du plan de développement durable pour l'approche "environnement".

EMAS (Eco-Management and Audit Scheme), premier référentiel européen de gestion de l'environnement, créé en 1993, a pour but de permettre aux entreprises européennes qui le désirent de mettre en avant leurs engagements en matière de protection de l'environnement.

EMAS est donc un règlement définissant la participation volontaire à un système de management environnemental et d'audit, dans lequel la communication, tant interne qu'externe à l'organisme, occupe une place primordiale. Lors de sa révision, la norme internationale ISO 14001:1999 est incluse au règlement comme référentiel pour le système de management de l'environnement mais sans que celle-ci soit l'unique système permettant l'obtention de l'enregistrement EMAS.

Les différentes étapes pour l'obtention de l'enregistrement sont reprises schématiquement en fin d'article.

- Effectuer une analyse environnementale ;
- Rédiger et valider la documentation ;
- Déterminer les aspects environnementaux ;
- Planifier les objectifs et cibles
- Définir les compétences nécessaires pour chacune des tâches ;
- Définir les responsabilités ;
- Effectuer des audits internes ;
- Réaliser une revue de direction ;
- Etablir et suivre un plan de formation.

En plus des exigences de la norme internationale ISO 14001, qui se base sur la philosophie de la roue de Deming (plan-do-check-act), le règlement EMAS impose des directives plus strictes en matière de législation, analyse et impacts environnementaux, déclaration environnementale et amélioration continue.

Pour l'obtention de l'enregistrement EMAS, un audit supplémentaire de vérification par un organisme accrédité est nécessaire. La déclaration est ensuite transmise à l'organisme régional adéquat pour effectuer l'enregistrement.

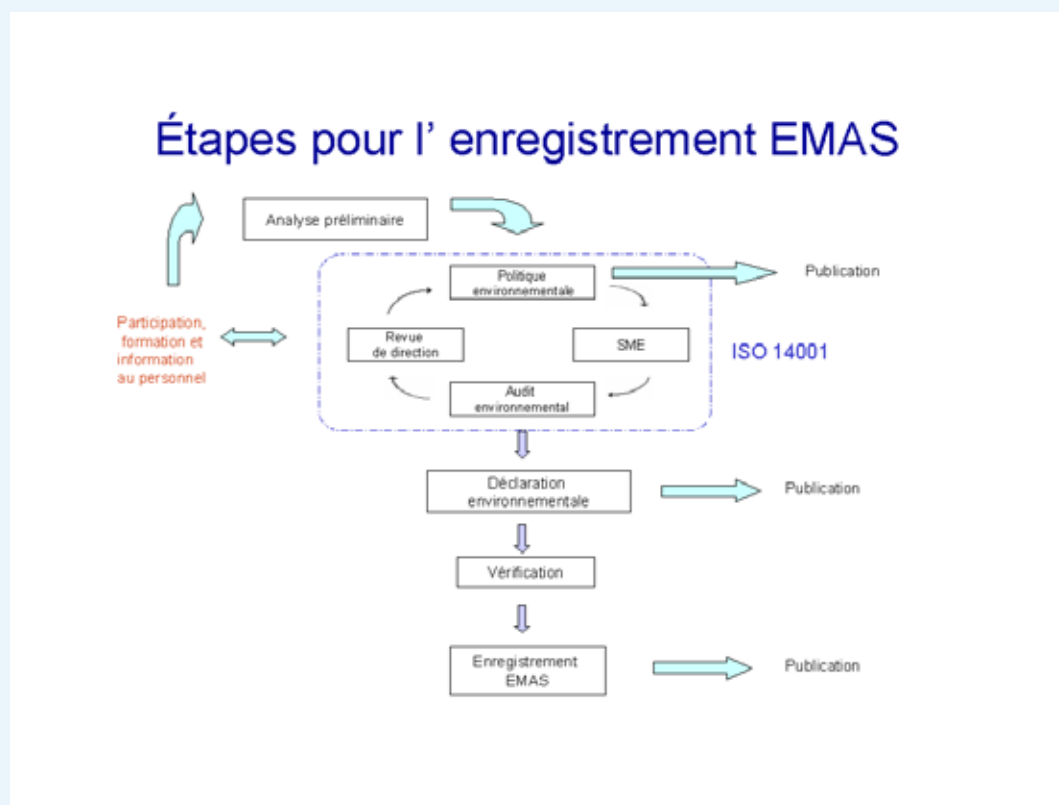
Et l'AFSCA dans tout cela?

Plusieurs actions indépendantes ont vu le jour au sein de l'Agence telle que la création du "Groupe Développement durable".

- Au niveau de la Direction générale des Laboratoires, l'intérêt des cinq laboratoires en matière d'environnement est souligné depuis 2006 au travers de la Politique qualité. Concrètement, des groupes de travail environnement et sécurité, ont été mis en place en 2007. Leur objectif principal est le suivi des permis d'environnement dans différents bâtiments hébergeant des laboratoires. Début 2008, le projet EMAS a pris forme, les représentants qualité, environnement et sécurité se réunissant tous les deux mois pour évaluer les états d'avancement du projet et partager leurs idées sur la mise en place du management environnemental dans les différents sites. Beaucoup de travail reste encore à faire jusqu'à l'obtention de l'enregistrement EMAS, mais nous comptons bien y arriver et cela avec l'entière collaboration de l'ensemble du personnel car n'oublions pas, l'environnement c'est l'affaire de tous.

Marianne Aubry, LFSAL

marianne.aubry@afsca.be



Trichines

Évolutions

Recherche approfondie sur l'usage de la pepsine liquide

Il est reconnu que l'usage de pepsine en poudre peut provoquer des réactions allergiques aiguës chez certains techniciens prédisposés.

Une pepsine sous forme liquide a été préparée et intensivement testée, ceci aussi bien lors d'une étude préliminaire que lors d'un test interlaboratoire auquel 4 LNRs européens ont participé.

Lors de ces études, l'activité de la pepsine sous forme liquide a été évaluée et comparée avec l'activité de la pepsine en poudre, ceci tant du point de vue de la capacité à digérer de la viande qu'à libérer les larves de *Trichinella spiralis* de leurs capsules.

La qualité de la digestion a été évaluée en fonction de la clarté du liquide de digestion ainsi que de la quantité de viande restée sur le tamis après digestion.

Lors de ce test interlaboratoire, chaque laboratoire participant a examiné 20 échantillons anonymes de 100g de viande de porc contenant un nombre connu de larves (0-30) en utilisant la méthode de digestion d'échantillons collectifs avec utilisation d'un agitateur magnétique (Méthode de détection de référence, annexe 1, Chapitre 1 du Règlement (CE) 2075/2005), en utilisant de la pepsine en poudre (10 échantillons) et en utilisant de la pepsine liquide (10 échantillons).

Tous les LNRs ont retrouvé 70 à 80% des larves en utilisant les deux formulations et ont trouvé la pepsine liquide aussi efficace que la pepsine en poudre. Aucune différence n'a été observée en ce qui concerne la clarté des liquides de digestion ou la quantité de viande restée sur le tamis.

L'usage de la pepsine liquide représente donc une nette amélioration de la technique en matière de prévention des réactions allergiques chez les sujets prédisposés.

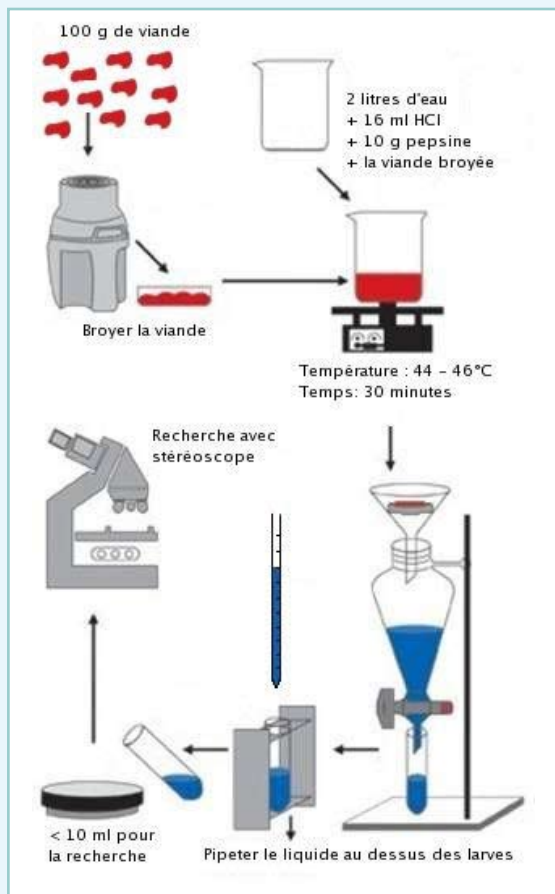


Schéma d'analyse

Référence: Maddox-Hyttel,C.; Nockler,K.; Pozio,E.; Vallee,I.; Boireau,P., 2007. Evaluation of a fluid versus a powder pepsin formulation to detect *Trichinella spiralis* larvae in meat samples by a digestion technique. Journal of Food Protection, 70, 12, 2896-2899.

Feedback CRL – Workshops - Symposia

Résultats du Laboratoire National de Référence *Trichinella* (LNRT) pour la participation aux tests interlaboratoires internationaux en 2008:

- Le LNRT a participé au test interlaboratoire international de la digestion artificielle d'échantillons collectifs avec utilisation d'un agitateur magnétique (Méthode de référence), organisé par le Community Reference Laboratory for Parasites (CRLP).

Résultats:

Nombre de larves retrouvées par le LNRT	Nombre de larves dans l'échantillon	% larves retrouvées
6	7	86
8	8	100
6	6	100
3	3	100
3	3	100
3	3	100
14	15	93
13	16	81
16	17	94
0	0	/

- Le LNRT a aussi participé au test interlaboratoire international organisé par le LNRT français. Ces résultats ne sont pas encore connus.

Évolutions normatives et légales

Le règlement (CE) no 1245/2007 de la Commission a modifié l'annexe I du règlement (CE) n° 2075/2005 en ce qui concerne l'utilisation de pepsine liquide pour la détection de *Trichinella* dans les viandes :

1) Le chapitre I est modifié comme suit:

a) Le point 1 p) est remplacé par le texte suivant:

"p) Pepsine, concentration: 1: 10000 NF (US National Formulary), correspondant à 1: 12500 BP (British Pharmacopoea), correspondant à 2000 FIP (Fédération Internationale de Pharmacie), ou pepsine liquide stabilisée contenant au minimum 660 unités pharmacopéenne européenne par ml."

b) Le point 3.I b) est remplacé par le texte suivant:

"b) Ajouter 10 ± 0,2 g de pepsine ou 30 ± 0,5 ml de pepsine liquide."

Leen Claes, Institute of Tropical Medicine Antwerp (ITM)
lclaes@itg.be



Physico-chimie

Evolutions

Détermination par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) de photo-initiateurs dans des produits alimentaires en contact avec des emballages

En septembre 2005, une alerte rapide a été déclenchée concernant la présence de 2-isopropylthioxanthone (ITX) dans du lait pour enfant en bas âge, conditionné en Tetrapak®. Il a été établi que la contamination en ITX dans le lait était due à la migration du matériau d'emballage vers l'aliment. L'intégrité des produits alimentaires n'a pas été assurée.

L'ITX est un photo-initiateur largement utilisé dans les encres, les peintures et vernis pour le bois, le papier, la sérigraphie, les produits cosmétiques et d'autres produits de traitement de surface.

Les photo-initiateurs produisent des radicaux libres qui, lorsqu'ils sont exposés à la lumière UV ou visible, accélèrent la polymérisation des composants acryliques du revêtement. L'avantage principal de la polymérisation catalysée par des photo-initiateurs est qu'elle est indépendante de la température, permettant un séchage rapide et un contrôle aisé. La polymérisation peut être réalisée à des températures très basses et arrêtée simplement en supprimant la source de lumière. Pour le conditionnement des produits alimentaires, des précautions particulières doivent être prises car, lorsque le revêtement ou l'encre entrent en contact avec l'aliment, les photo-initiateurs peuvent y migrer et s'y accumuler.

Les autorités européennes de la sécurité alimentaire (EFSA) ont réalisé des études toxicologiques afin de déterminer l'impact de ces polluants sur la santé, mais, jusqu'à présent, les conséquences sur la santé humaine sont toujours inconnues.

Dès lors, il était nécessaire de développer une méthode rapide et fiable pour détecter les faibles quantités de ces substances et évaluer quantitativement l'ITX et deux autres photo-initiateurs (2-Ethylhexyl-4-diméthylaminobenzoate (EHDAB) et 4-benzoylbiphényl (4-BBP)) à l'état de traces dans le lait par chromatographie liquide à haute pression (HPLC), avec une détection par fluorescence ou UV dans les aliments en contact avec le matériau d'emballage. Par la suite, une enquête a été effectuée en Belgique pour évaluer la présence d'ITX dans des matériaux en contact avec les aliments.

Cette méthode, sensible et validée, convient pour la quantification, à faible dose, des photo-initiateurs migrant à partir d'emballage alimentaire imprimé de produits laitiers, de jus de fruit, de pulpe et de jus de tomate. Les limites de détection obtenues étaient respectivement, 0,5 ppb, 20 ppb et 20 ppb pour l'ITX, l'EHDAB et le 4-BBP.

Les résultats de cette étude ont indiqué que dans seulement 2 des 64 échantillons testés, des traces d'ITX ont été trouvées, ce qui laisse à penser que, depuis 2006, l'ITX est prudemment utilisé pour l'impression des emballages alimentaires.

Actuellement, il n'y a aucun règlement européen spécifique pour les photo-initiateurs dans l'alimentation. Néanmoins, les matériaux et les objets qui risquent d'entrer en contact avec des produits alimentaires devraient être soumis aux critères généraux fixés par le Règlement (CE) n° 1935/2004. Des matériaux d'emballage ne devraient pas transférer leurs constituants dans l'alimentation en quantités telles qu'elles puissent mettre en danger la santé humaine ou provoquer des changements inacceptables dans la composition ou les caractéristiques organoleptiques du produit alimentaire.

Actuellement, sur le marché belge, le contrôle de ces produits chimiques migrant depuis l'emballage vers le produit alimentaire est toujours en vigueur afin d'éviter ce type de contamination.

Tina N'Goy & Fabien Bolle

fabien.bolle@iph.fgov.be

Développement d'une méthode multiple pour les toxines marines

Ces dernières années, plusieurs efforts ont été consentis sur le plan international dans le cadre de développement d'une méthode multi-analytes pour la détermination des phycotoxines lipophiles par chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse (LC-MS). L'ISP a été impliqué dans la validation de méthodes du WP5 du projet européen BIOTOX. Dans ce projet, un certain nombre de méthodes ont été développées et testées. Ces méthodes ont été validées avec succès dans un laboratoire du projet mais le transfert et la validation des méthodes, lors d'une étude inter-laboratoire, ont montré qu'il subsistait encore des problèmes. En conséquence, il a été décidé en mars 2008 dans un groupe de travail LC-MS des NRLs et du LCR de les abandonner et de développer une nouvelle méthode de confirmation par groupe de toxines marines.

Mirjana Andeljelkovic & J. Van Loco

joris.vanloco@iph.fgov.be

La détermination des pesticides- quat avec une méthode multi-résidus

L'analyse du chlorméquat et du mépiquat a été développée à l'ISP. L'originalité de la méthode chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse en tandem (LC-MS-MS) est que ces deux pesticides peuvent être détectés simultanément. En effet, la méthode multi-résidus utilisée permet d'obtenir de très bons rendements pour ces deux pesticides extrêmement polaires. Le chlorméquat et le mépiquat sont recherchés systématiquement. Une analyse de confirmation a été également développée. Cette méthode, basée sur la méthode normalisée prEN15055, nécessite une colonne spécifique et n'est dès lors utilisée que si ces pesticides sont détectés dans l'analyse multi-résidus. Ceci permet un gain de temps et une limitation des coûts.

Vincent Hanot

vincent.hanot@iph.fgov.be

Installation d'un nouveau GC-MS-MS dans le NRL

Un nouveau chromatographe en phase gazeuse équipé d'un spectromètre de masse de type "triple quadrupole" a été installé dans le cadre du programme 'Pesticides et contaminants'. Celui-ci utilisera la méthode actuelle d'analyse multi-résidus de pesticides et permettra d'atteindre les nouvelles limites de quantification pour l'analyse des polychlorobiphényles (PCB's) (les normes sont actuellement en cours de révision).



Feedback LCR et LNR – Workshops

LCR Workshop Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) (février 2008)

Les informations échangées au cours du workshop PAH peuvent se résumer comme suit :

- discussion du PT (proficiency test) 2007 organisé par le Laboratoire Communautaire de Référence (LCR) :
 - le fait d'utiliser une solution contenant tous les congénères de PAH envoyée par le LCR pour l'étalonnage permet de diminuer la dispersion des résultats ;
 - globalement, les résultats sont bons, surtout pour le benzo[a]pyrène (BaP). On observe peu de différence suivant la méthode d'analyse utilisée, chromatographie en phase liquide à haute performance avec détecteur UV/fluorescence (HPLC-UV/FLD) ou chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS), sauf, d'une part, pour le cyclopenta[cd]pyrène (CPP) pour lequel la GC-MS est légèrement meilleure et, d'autre part, pour la séparation des benzofluoranthènes qui est meilleure en HPLC ;
- un nouveau groupe de travail est formé au sein du CEN/TC 275 (Food analysis – Horizontal methods);
- suite au rapport de l'EFSA, l'utilisation du BaP comme marqueur du total des PAH's est remise en question ;
- un guide « best practice guide » est en cours de rédaction en collaboration avec les LNR's. L'objectif est de tirer profit des connaissances acquises lors des PT tout en tenant compte de la littérature pour donner des recommandations spécifiques pour les PAH. Le premier point étudié est l'étalonnage ;
- analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC) : différents types de colonnes et d'inserts ont été testés par le LCR ;
- analyse par LC-MS : méthode délicate en cours de développement par le LCR ;
- une demi-journée a été consacrée aux incertitudes de mesures. Différentes méthodes de calculs ont été proposées par plusieurs LNR's et le LCR. De manière générale, le même ordre de grandeur est obtenu pour l'incertitude. Aucune directive n'a été donnée sur la manière de calculer cette dernière.

Isabelle Windal

isabelle.windal@iph.fgov.be

Formation « Matériaux de contact » pour les inspecteurs et les contrôleurs de l'AFSCA (mai 2008)

L'objectif de la formation était de mettre en évidence concrètement les problèmes liés aux contaminations des denrées alimentaires provenant des matériaux en contact avec ces denrées alimentaires.

Après un bref rappel de la législation, il a été répété que le prélèvement des échantillons est une opération critique qui a une grande influence sur les résultats de l'analyse.

Le type de substances susceptibles de migrer, en fonction de la nature de la matrice prélevée, a été abordé.

Le prélèvement des matériaux et objets a été présenté de façon à mettre en évidence la variation des résultats et la difficulté d'obtenir des échantillons homogènes.

En effet, l'accent a été mis sur la notion de prélèvement des échantillons car la suite des opérations en dépend (nécessité de prélever plusieurs pièces d'un même lot et importance d'identifier les matrices adaptées à l'analyse de la substance demandée).

Les aspects « conditions de migration » et « techniques d'analyse » ont été évoqués et un rappel des limites spécifiques de migration a été mentionné pour chaque substance recherchée.

Le bilan des résultats non-conformes (période avril 2007- avril 2008) démontre la nécessité de maintenir une

vigilance accrue quant à la possibilité de migration de ces substances en terme de protection de la santé du consommateur. L'attention a été mise sur 2 molécules à surveiller particulièrement en ce moment, il s'agit du formaldéhyde et du 4,4-diaminophénylméthane, sur lesquelles une étude de l'évolution de la migration obtenue après 3 migrations successives a été effectuée.

Enfin, les aspects toxicologiques susceptibles d'en découler ont été exposés, ainsi que l'impact sur la santé du consommateur.

Fabien Bolle

fabien.bolle@iph.fgov.be

Evolutions normatives et légales

Nouvelles normes pour les PCB's

Des discussions sont actuellement en cours pour fixer des normes européennes pour les PCB's marqueurs dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux. Ces normes porteront sur la somme des PCB's 28, 52, 101, 138, 153, 180 et seront plus basses que les normes Belges actuelles.

Isabelle Windal & Vincent Hanot

vincent.hanot@iph.fgov.be

Etat des connaissances des méthodes d'analyses dans le cadre de la Directive 96/23/CE

En décembre 2007, la Commission européenne a officialisé le document du LCR concernant la concentration minimale que les laboratoires doivent pouvoir atteindre. Dans ce document, le LCR donne les indications en ce qui concerne les matrices pour le programme de contrôle et les critères minimaux pour la limite de décision (CCa) et la capacité de détection (CCb) des méthodes d'analyse pour la recherche des substances sans limite maximale de résidus (LMR). Ces limites n'ont pas de valeur légale et ne sont donc pas comparables avec les limites de performances minimales requises (LPMRs) qui, elles, ont un caractère légal dans le cadre de la Directive 2005/34/CE.

Stephanie Fraselle & Joris Van Loco

joris.vanloco@iph.fgov.be



Organismes génétiquement modifiés



Évolutions

Détection des Organismes génétiquement modifiés

Par voie de contrat, l'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA) a mandaté un consortium de trois laboratoires en tant que Laboratoire National de Référence (LNR) des organismes génétiquement modifiés (OGM) soit en abrégé le LNR-OGM (ou dans sa version anglaise NRL-GMO). Les laboratoires concernés sont : l'Institut Scientifique de Santé publique - Section de Biosécurité et de Biotechnologie (ISP-SBB), l'Instituut voor Landbouw- en Visserijonderzoek - Eenheid Technologie en Voeding (ILVO qui anciennement était le CLO) et le Centre Wallon de Recherches Agronomiques – Département Qualité des Productions Agricoles (CRA-W). Ce consortium est compétent pour le contrôle de la présence et de la traçabilité des OGM dans un contexte de sécurité alimentaire. Dans son fonctionnement quotidien le LNR belge des OGM collabore activement et entretient des contacts étroits avec le Centre Commun de Recherche de la Commission européenne qui agit en cette matière en tant que Laboratoire Communautaire de Référence (CRL, voir plus loin). Les trois laboratoires cités plus haut sont d'ailleurs les points de contacts du CRL avec la Belgique en tant qu'Etat membre de l'Union européenne. Cela requiert des laboratoires en question qu'ils disposent d'un niveau d'expérience suffisant impliquant notamment l'obtention d'un certificat d'accréditation sous ISO/IEC17025 pour la détection des OGM.

Dès le début de la production des OGM à des fins de commercialisation, il a été opté par les instances européennes de soumettre tous les tests analytiques officiels à un processus approfondi de validation. Les méthodes appliquées à l'extraction de l'ADN génomique, l'exécution des analyses PCR (réaction de polymérisation en chaîne), les critères auxquels doit satisfaire le matériel de référence ainsi que les définitions précises de concepts critiques (tels notamment la limite de détection ou de quantification, l'incertitude de mesure, la robustesse des tests, ...) ont été ou sont en passe d'être normalisés par le Comité européen de Normalisation (CEN).

Afin, d'une part de répondre à ces conditions technico-expérimentales strictes tout en permettant d'autre part une approche coordonnée, il a été décidé par les instances européennes en concertation avec les Etats membres de l'Union européenne que l'organisation et la supervision de la recherche ayant trait à la détection des OGM en rapport direct avec le cadre juridique de la réglementation « Food/feed » devaient être confiées à la DG Centre Commun de Recherche de la Commission européenne et plus spécifiquement à l'IHCP (Institute of Health and Consumer Protection – Institut pour la Protection de la Santé et du Consommateur situé à Ispra en Italie) ainsi qu'à l'IRMM (Institute of Reference Materials and Methods – Institut des Matériaux et Méthodes de Référence situé à Geel en Belgique). C'est dans ce même contexte que le Laboratoire Communautaire de Référence (CRL, d'après l'abréviation de la dénomination anglaise) a été constitué au sein de l'IHCP. Ce CRL coordonne et réalise des essais interlaboratoires internationaux et se voit aidé dans cette tâche par les laboratoires officiels agréés des différents Etats membres de l'Union. Ces divers laboratoires sont regroupés depuis 2002 dans le réseau des laboratoires européens de détection des OGM (« ENGL » d'après l'abréviation de la dénomination anglaise du réseau). Les trois laboratoires formant le NRL belge des OGM sont tous membres de l'ENGL et le LNR est représenté au comité de pilotage de l'ENGL.

C'est dans ce contexte normatif qu'une série de méthodes ont déjà été transposées en normes ou en tests officiels (entre autres les pré-normes CEN, les méthodes de détection CRL disponibles sur le site <http://gmo-crl.jrc.it>). Ces méthodes ne portent, pour le moment, que sur l'identification et la quantification d'un nombre limité

d'événements transgéniques autorisés sur le marché européen ainsi que sur quelques méthodes PCR génériques ciblant des séquences d'ADN couramment employées dans des constructions transgéniques (tels le promoteur 35S du virus de la mosaïque du chou-fleur et le terminateur NOS d'*Agrobacterium tumefaciens*).

Les laboratoires du NRL-OGM collaborent à des projets de recherche liés à la détection des OGM que ces projets soient financés par les autorités fédérales (projet GMODETEC du SPF Santé Publique) ou par la Commission européenne (projet Co-Extra relevant du 6ème programme cadre). On y traite de divers aspects analytiques ayant pour objet d'améliorer la détection des OGM ainsi que leur traçabilité (étiquetage des OGM autorisés, traçage des OGM non autorisés dans l'Union) et on y travaille au développement de stratégies globales de détection visant aussi à déceler les OGM inconnus.

Feedback CRL – Workshops - Symposiums

Le LNR-OGM a organisé 2 formations en 2007 : un atelier de travail (septembre 2007) où ont été exposés les contextes législatif et normatif de la détection des OGM en Europe et une formation pratique de 3 jours consacrée à la démonstration de l'approche développée par l'ISP pour la détection des OGM ou de leurs dérivés.

En 2008, la formation pratique consiste en deux séances parallèles dédiées à la quantification des OGM par PCR en temps réel : une formation en français au CRA-W (mai 2008) et une formation en néerlandais à l'ILVO (juin 2008). A l'arrière-saison 2008, un atelier de travail se penchera sur des situations où la détection des OGM est délicate (programme encore à fixer).

Évolutions normatives et légales

Durant la période couvrant l'année 2007 et le premier semestre de 2008, les instances européennes ont édicté une série de mesures concernant d'une part la détection d'OGM non autorisés sur le marché européen et d'autre part la façon de traiter la présence d'un OGM dont l'événement n'a pas fait l'objet d'une prolongation d'autorisation.

Ces décisions portent sur le riz Bt63 pour ce qui est des OGM non autorisés tandis que pour les OGM n'ayant pas fait l'objet d'une prolongation de leur autorisation les événements concernés sont : les maïs Bt176 et MON860xGA21 ainsi que les colzas MS1/RF1, MS1/RF2, MS1/RF1/RF2 et Topas 19/2.

Les décisions plus précises relatives aux OGM dont l'autorisation n'a pas été prolongée peuvent être consultées sur le site officiel de la Commission européenne (http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm).

Les dispositions visant le riz Bt63 sont détaillées dans la « Décision 2008/289/CE de la Commission du 3 avril 2008 relative à des mesures d'urgence concernant l'organisme génétiquement modifié non autorisé Bt 63 dans les produits à base de riz ».

Calendrier des formations et symposiums non-obligatoires

Date	Sujet	Lieu	Plus d'infos (site web)
12-17 octobre 2008	13th International Biotechnology Symposium	Dalian, Chine	www.IBS2008.org

Gilbert Berben (CRA-W) Isabel Taverniers (ILVO) Marc Van den Bulcke (WIV/ISP)

berben@cra.wallonie.be

isabel.taverniers@ilvo.vlaanderen.be

mabul@iph.fgov.be



Dioxines et DL-PCB

Evolutions

Détermination de la dioxine et/ou des composés de type dioxine à l'aide d'un bioassay CALUX.

Lors de la crise de la dioxine en 1999 est apparue la nécessité de développer une méthode de détermination plus rapide et meilleur marché de la dioxine et/ou des composés de type dioxine.

Le Laboratoire fédéral pour la Sécurité alimentaire de Tervuren (FLVVT) a élaboré en 2001 une nouvelle méthode d'analyse sur base d'un système de biodétection CALUX. Depuis janvier 2007, le laboratoire est désigné en tant que Laboratoire National de Référence (LNR) pour la détermination des « Dioxines et PCB de type dioxine dans les aliments pour animaux et les denrées alimentaires (CALUX) ».

Dioxine et composés de type dioxine.

Les dioxines et composés de type dioxine, comme les polychlorobiphényles (PCBs) coplanaires, se comptent parmi les composés toxiques les plus connus. Il s'agit de contaminants environnementaux persistants qui se bioaccumulent dans la chaîne alimentaire. L'exposition aux dioxines provoque e.a. : le cancer, des malformations à la naissance, des troubles endocriniens, le dérèglement de la thyroïde, l'endométriose, des dommages au système immunitaire, des problèmes de fécondité, le diabète, la chloralose, ... Nous absorbons principalement des dioxines par notre alimentation et surtout par la consommation de viandes, poissons, produits laitiers et œufs.

Système de biodétection : CALUX

CALUX - Chemically Activated Luciferase eXpression – est une méthode de screening adéquate pour la détermination de dioxines et substances de type dioxine.

La méthode se sert de cellules de foie de rats ou de souris génétiquement modifiées. Ces cellules possèdent un gène marqueur qui code pour la luciférase. Ce gène marqueur est sous le contrôle de « dioxine responsive elements » (DREs). Les PCDDs (Polychlorinated dibenzo-p-dioxins), PCDFs (polychlorinated dibenzofurans) et PCBs coplanaires se lient à un récepteur intracellulaire (Ah = aryl-hydrocarbène). En cas de combinaison, ce complexe dioxine-récepteur Ah va, à son tour, se lier aux DREs. Cela provoque une altération de l'expression génique qui entraîne la formation de luciférase. Ce même mécanisme, par lequel différentes protéines sont formées, est, en outre, la cause des effets toxiques constatés dans le corps humain.

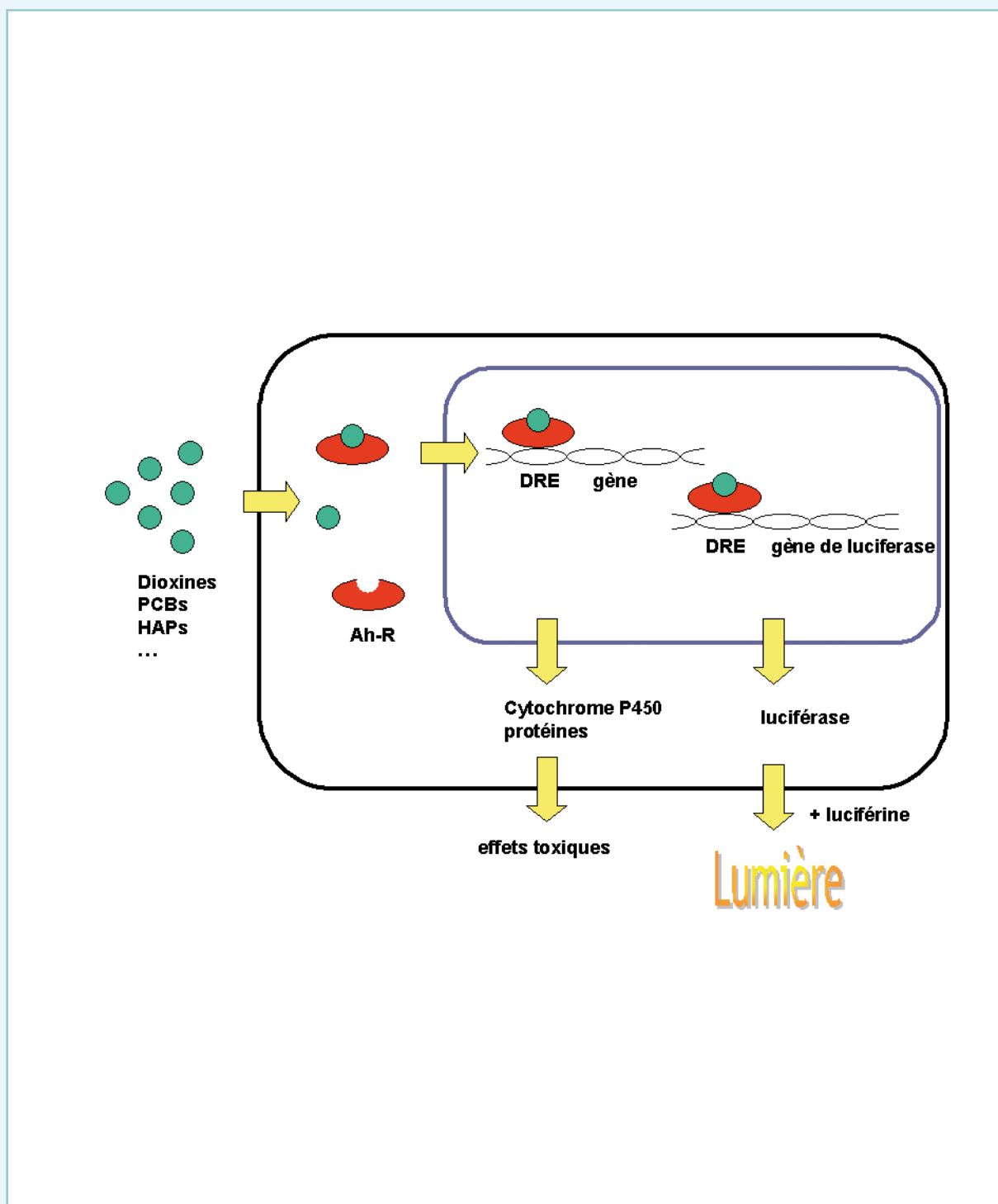
La réaction entre la luciférase et la luciférine émet de la lumière. La quantité de lumière émise est une mesure directe de la quantité de la combinaison ligand AhR. Lors de la purification, les PCDD et les PCDF sont séparés des PCB coplanaires et sont séparément exposés aux cellules.

Moyennant la prise en considération des mesures de prévention des contaminations durant la purification, le bioassay CALUX s'est avéré être une méthode de screening valable. Cette méthode est surtout mise en valeur en situation de crise. La méthode de screening doit toujours être cautionnée par une méthode de confirmation, GC-HRMS.

Des informations complémentaires peuvent être obtenues auprès du Laboratoire fédéral pour la Sécurité alimentaire, Leuvensesteenweg 17, B-3080 Tervuren.

Huig Vanderperren, FLVVT
huig.vanderperren@favv.be
mandy.lekens@favv.be

Principe du bioassay CALUX



Lait et produits laitiers

Feedback CRL – Workshops - Symposiums

“10th Workshop of the European Union Community Reference Laboratory for Milk and Milk Products” - Maisons-Alfort (France) - 28 et 29 juin 2007

La session de travail s'est déroulée en présence de Monsieur Thierry CHALUS, représentant EC DG-SANCO, qui a ouvert la séance par un bref rappel de l'évolution de la législation européenne relative à la sécurité alimentaire du lait et des produits laitiers. La directive verticale 92/46 est ainsi remplacée par les règlements horizontaux 852/2004 et 853/2004 qui couvrent respectivement les aspects généraux et les règles spécifiques aux produits d'origine animale. Les implémentations au règlement 853/2004 sont reprises dans le règlement 2074/2005. Les règlements 853/2004 et 2074/2005 sont modifiés respectivement par les règlements 1662/2006 et 1664/2006. Les règlements 853/2004 et 1662/2006 fixent les critères à respecter tandis que les règlements 2074/2005 et 1664/2006 précisent les méthodes de référence à appliquer pour leur détermination. Les critères concernés sont la teneur en germes (norme EN/ISO 4833), la teneur en cellules somatiques (norme ISO 13366-1) et l'activité de la phosphatase alcaline (ISO 11816-1) du lait cru et/ou traité thermiquement.

Les résultats de l'analyse comparative organisée par le CRL pour évaluer les performances des LNRs en matière de détermination quantitative des staphylocoques à coagulase positive, à laquelle le LNR belge ILVO a participé, ont été présentés. Les résultats étaient globalement satisfaisants en terme de répétabilité et de reproductibilité et montrent que le réseau européen est compétent pour cette analyse. Une étude sur l'efficacité des agents bactériostatiques utilisés pour stabiliser les échantillons de lait destinés aux analyses comparatives d'énumération des staphylocoques à coagulase positive a ensuite été présentée. La séance consacrée aux staphylocoques a été clôturée par la présentation de l'étude conduite par le CRL pour valider les méthodes de détection des entérotoxines Transia plate SET, Vidas SET2 et SET-RPLA. Le LNR belge ILVO a participé aux essais inter-laboratoires de validation de la méthode Vidas SET 2. Les données des études comparatives sont complètes et satisfaisantes pour valider les méthodes Transia plate SET et Vidas SET mais doivent être complétées pour la méthode SET-RPLA.

Les méthodes de référence (ISO 21528) d'énumération des Enterobacteriaceae par comptage sur plaque (CCT) et par estimation du nombre le plus probable (NPP) ont été évaluées. Elles ont toutes les deux un bon recouvrement et une bonne sélectivité par rapport aux espèces testées. Au cours de cette étude menée par le CRL, la limite de quantification de la méthode NPP a été fixée à 10 ufc/ml et celle de la méthode CCT à 100 ufc/ml.

La flore totale du lait cru peut être déterminée par une méthode de routine (Bactoscan) dont les valeurs doivent être converties en ufc/ml. Les tables de conversion des appareils de routine doivent être établies dans les conditions arrêtées au Workshop concernant la flore totale qui s'est tenu à Kiel en 2006 et intégrées à la norme ISO 21187. Le CRL rappelle que la justesse des analyses de routine de détermination de la flore totale est de la responsabilité des LNRs et dresse un bilan de l'état d'avancement des tables de conversion dans les différents Etats membres représentés. Le CRL recommande d'uniformiser les tables de conversion à l'échelle du pays (une table de conversion par pays). Tous les LNRs étaient tenus de participer à l'analyse comparative flore totale (méthode de référence) organisée après le Workshop. La mise en œuvre d'une boîte par dilution est valable pour autant que deux boîtes (de deux dilutions successives) soient prises en compte dans la comptabilisation des colonies (ISO 7218 point 9.3). La méthode de référence de détermination de la teneur en cellules somatiques (ISO 13366-1) est insuffisamment caractérisée. L'instauration d'un groupe de travail dans le contexte de la Fédération Internationale de Laiterie, en concertation avec le CRL, a en conséquence été proposée. Celui-ci aura pour mission, notamment, de déterminer les paramètres de répétabilité et de reproductibilité de la méthode de référence et de déterminer la teneur en cel-

lules de matériaux de référence. Le CRL prévoit l'organisation d'un Workshop dédié aux cellules somatiques pour 2010.

Enfin, la session de travail s'est terminée par l'examen des résultats de l'analyse comparative de détermination de la phosphatase alcaline conduite en 2006. Lors de cette analyse, la limite de reproductibilité, telle que définie dans le contexte de la méthode de référence ISO 11813-1, était dépassée. La rigueur des limites normatives a été mise en cause et sera examinée. Le CRL demande aussi aux LNRs présents de fournir, dans la mesure du possible, des données pour déterminer des limites normatives pour le lait pasteurisé provenant d'autres espèces animales que la vache, comme par exemple la brebis, la chèvre ou la jument. Le LNR belge ILVO-T&V y contribuera, ici aussi, activement dans les mois qui viennent. Un Workshop dédié à la phosphatase alcaline est prévu pour 2008.

Koen De Reu (ILVO-T&V) and Véronique Ninane (CRA-DQPA)

koen.dereu@ilvo.vlaanderen.be

ninane@cra.wallonie.be

"EuroResidue VI, Conference on Residues of Veterinary Drugs in Food" - Egmond aan Zee (Pays-Bas) - 19-21 mai 2008

La manifestation comprenait 2 sessions de travail, 32 conférences et 220 posters, et a rassemblé 399 participants. Les conclusions marquantes du congrès en matière de détermination des résidus dans le lait sont brièvement rapportées ci-dessous.

Le screening des résidus d'antibiotiques dans le lait par des tests microbiologiques n'a pas fait l'objet d'apport scientifique nouveau. Concernant les tests immunologiques et les receptortests, la tendance est assurément à une diminution de la durée des analyses (β -star 1+1 : 2 minutes ; Charm MRL3 : 3 minutes), de telle sorte que l'examen du lait lors du ramassage à la ferme est envisageable. Une autre tendance dans l'évolution des méthodes est le développement de tests permettant de détecter simultanément plusieurs familles de résidus : Charm MRL BLT et Combo (β -lactames et tétracyclines). A la place des anticorps et des récepteurs, les tests peuvent fonctionner avec des Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) (appliqués à la benzyl-pénicilline et aux sulfamides dans le lait). Une méthode « multirésidus », destinée à la détection des sulfamides, des fluoroquinolones et des β -lactames dans le lait, a été développée en Espagne à l'aide d'anticorps et d'un biosenseur optique. Effectuée avec cette méthode, la durée d'une analyse « multirésidus » est de 30 minutes.

Les plus grandes avancées concernent les techniques chromatographiques où des nouvelles techniques de screening, comme TOF-MS (Time-of-Flight) et Orbitrap, sont annoncées. Le système TOF est facile à utiliser, ne nécessite pas une banque de données de référence et permet de détecter des éléments inconnus. La technique se prête parfaitement pour la détection simultanée de dizaines de molécules de diverses familles de résidus. Les différences de rendement d'extraction, dues aux différences de polarité, sont compensées par la mise en œuvre de plusieurs solvants et standards internes. Pour la technique classique LC-MS/MS aussi, des méthodes toujours plus multi-classes et multi-résidus (médicaments vétérinaires) ont été développées (par exemple Branzell, Suède : dix-sept composés comprenant des tétracyclines, des sulfamides, des quinolones et des macrolides ; Turnipseed, USA : 25 composés, extraction à l'acétonitrile ; Bohm, Allemagne : tétracyclines, sulfamides, quinolones, macrolides, composés diaminopyrimidiques et lincosamides ; Radeck, Allemagne : 23 composés antiparasitaires de type benzimidazoles et leurs métabolites). L'absence de β -lactames parmi les composés détectés est remarquable; en raison de la sensibilité réduite des méthodes « multirésidus », ces composés sont difficilement détectables via LMR.



Les résultats de trois analyses comparatives ont été présentés : Bastiani, Italie : tétracyclines; Hackenburg, Allemagne : Tétracyclines et quinolones ; Polzer, Allemagne : chloramphénicol.

Les contributions du Laboratoire National belge de Référence Lait et produits laitiers en rapport avec le lait sont les suivantes :

- Daeseleire E. : poster concernant le développement et la validation d'une méthode LC-MS/MS pour la détection de 10 quinolones dans le lait
- Reybroeck W. & Ooghe S. : poster concernant la validation du β -star 1+1
- Reybroeck W. & Ooghe S. : poster concernant la validation du Charm MRL-3
- Van Royen G., Dubrueel P. & Daeseleire E. : poster relatif à l'évaluation d'une MIP pour la benzylpenicilline.
- Romnee J.M. : Poster concernant l'évaluation du Charm MRL β lactam/Tétracyclin.

Wim Reybroeck, Sigrid Ooghe and Els Daeseleire (ILVO-T&V)

wim.reybroeck@ilvo.vlaanderen.be

sigrid.ooghe@ilvo.vlaanderen.be

els.daeseleire@ilvo.vlaanderen.be

Evolutions normatives et légales

Veille législative:

Règlement (CE) n° 273/2008 de la Commission du 5 mars 2008 portant modalités d'application du règlement (CE) n° 1255/1999 du Conseil en ce qui concerne les méthodes à utiliser pour l'analyse et l'évaluation de la qualité du lait et des produits laitiers

Nouvelles normes IDF-FIL (International Dairy Federation – Fédération Internationale de Laiterie) en 2008 (jusqu'au 14 mai 2008):

Normes:

ISO/TS 17837|IDF/RM 025:2008 - Milk and Milkproducts – Determination of nitrogen content and crude protein calculation – Kjeldahl method

ISO 5544|IDF 089:2008 – Caseins – Determination of "fixed ash" (Reference method)

ISO 5545|IDF 090:2008 – Rennet caseins and caseinates – Determination of ash (Reference method)

ISO 5547|IDF 091:2008 – Caseins – Determination of free acidity (Reference method)

ISO 13366-1|IDF 148-1:2008 – Milk – Enumeration of somatic cells – Part 1: Microscopic method (Reference method)

ISO 13366-2|IDF 148-2:2008 – Milk – Enumeration of somatic cells – Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters

ISO 3432|IDF 221:2008 Cheese – Determination of fat content – Butyrometer for Van Gulik method

ISO 3433|IDF 222:2008 Cheese – Determination of fat content – Van Gulik method

Autres documents IDF-FIL utiles publiés en 2008 (jusqu'au 14 mai 2008):

IDF Bulletin n° 427/2008 'Towards a reference system for somatic cell counting in milk'

Koen De Reu (ILVO-T&V) and Véronique Ninane (CRA-DQPA)

Calendrier des formations et symposiums non obligatoires (octobre – décembre 2008)

Dates	Thème	Lieux	Informations (site Internet)
1-3/10/2008	IDF/INRA First International symposium on Minerals and Dairy Products	Saint-Malo France	http://www.inra.fr/mdp2008
9-14/11/2008	IDF World Dairy Summit 2008	Mexico City Mexico	http://www.wds2008mexico.com/
17-18/11/2008	World Mycotoxin Forum	Noordwijk The Netherlands	http://www.bastiaanse-communication.com/html/wmf5_new.html





Labinfo