

RECOMMANDATIONS POUR LA PRESENTATION DES DONNEES PERMETTANT D'EVALUER L'EFFICACITE DES ANTIMICROBIENS APPLIQUES SUR, OU INCORPORES DANS, LES ALIMENTS

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments est régulièrement saisie pour évaluer des demandes de mise sur le marché, ou des demandes d'autorisation d'essais industriels, concernant des produits antimicrobiens utilisés au contact des aliments, comprenant les ingrédients.

Dans ce document, sont considérés comme « antimicrobiens », tous les produits permettant d'éliminer, de tuer les micro-organismes indésirables (dont les virus) dans les aliments ou d'inhiber leur croissance.

Ces lignes directrices ont été établies par un groupe de travail du comité d'experts spécialisé « Microbiologie ». Elles peuvent constituer à ce titre un outil, à la fois pour les professionnels pour la constitution de leur dossier, et pour les experts pour fonder une expertise harmonisée.

Elles ont pour objectif de préciser les données *a minima* nécessaires pour l'évaluation de l'efficacité de l'activité antimicrobienne de ces produits, dans les conditions de leur utilisation. Sont exclus de leur champ d'application les additifs utilisés comme conservateurs et les produits destinés à la décontamination de l'eau.

Selon la nature de la demande, elles peuvent compléter sur un plan scientifique, les dispositifs réglementaires existants ou autres référentiels existants (par exemple, elles sont complémentaires des lignes directrices de l'Afssa pour la constitution d'un dossier relatif à l'emploi d'un auxiliaire technologique¹, antibactérien, en alimentation humaine définies pour l'évaluation des risques toxicologiques, juillet 2003). Elles constituent également une base de travail pour la réflexion, en cours, concernant l'élaboration de documents techniques pour l'évaluation des biocides (au sens de la directive 98/8/CE).

La sécurité et la salubrité des aliments doivent rester des critères indissociables de l'utilisation de produits permettant d'éliminer, de tuer les micro-organismes indésirables des aliments ou d'inhiber leur croissance. Il est souligné en préambule que toute utilisation de produits antimicrobiens au contact des aliments:

- doit tenir compte de la réglementation en vigueur ;
- doit être complémentaire à d'autres moyens de maîtrise de l'hygiène (respect des bonnes pratiques, maîtrise de la chaîne du froid, formation du personnel ...) ; l'usage de produits antimicrobiens doit être considéré comme un moyen de prévention des risques microbiologiques liés aux aliments, et non comme un palliatif aux défaillances d'hygiène.

¹ Décret N° 2001-725 du 31 juillet 2001 relatif aux auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine

Données administratives

- Sommaire du dossier, pages numérotées
- Nom ou raison sociale et adresse du pétitionnaire accompagnés du nom et des coordonnées de la personne responsable du dossier
- Liste récapitulative des pièces jointes

1- Présentation du produit antimicrobien

- Composition et présentation détaillée du produit.
 - Noms des substances présentes : nom suivant la nomenclature de l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), nom commun, nom commercial, synonymes, abréviations
 - Numéro CAS (Chemical Abstracts Service) si disponible.
 - Masse molaire (g/mol) ;
 - Formule brute et développée ;
 - Solubilité de chaque substance dans les solvants aqueux et organiques et dans l'aliment au contact ;
 - Stabilité de chaque substance à la température de mise en œuvre de l'aliment et pendant le stockage de l'aliment (préciser dans quelles conditions la substance se dégrade) ;
 - pH du produit concentré et aux conditions d'emploi proposées ;
 - Pureté de chaque substance (%), préciser la méthode de dosage employée ;
 - Réactivité vis-à-vis du milieu au contact (préciser la nature de la ou des réactions ayant lieu, les produits de réaction obtenus et les réactions secondaires possibles) ;
- Documents concernant les utilisations dans d'autres pays de la Communauté européenne et/ou dans d'autres pays.
- Toutes données disponibles permettant d'enrichir le dossier, en relation étroite avec l'application proposée.

2- Caractéristiques microbiologiques de l'aliment ou du groupe d'aliments concerné

- Quelles sont les espèces microbiennes susceptibles d'être présentes sur/dans l'aliment ?
- Quelles sont les charges microbiennes les plus souvent rencontrées pour les aliments à traiter ?
- Quelle est la capacité de croissance, sur/dans l'aliment considéré, des micro-organismes pathogènes susceptibles d'y être présents ?



3- Objectif du traitement

Quels sont les micro-organismes visés ou catégories de micro-organismes visés par le traitement antimicrobien proposé ? Quels sont les critères microbiologiques réglementaires à atteindre, s'ils existent ? En l'absence de tels critères, quels sont ceux visés ?

Le traitement a-t-il pour objectif(s) :

- De traiter les matières premières préalablement à une transformation ?
- De diminuer la charge microbienne globale de l'aliment avant consommation ?
- De contribuer à réduire une contamination éventuelle d'un aliment par un pathogène connu ?
- D'obtenir un effet bactériostatique permettant un allongement de durée de vie commerciale ?
- D'améliorer des rendements de production ?
- Autres (à préciser) ?

4. Description détaillée du procédé pour lequel l'usage d'un traitement antimicrobien est envisagé :

- Etape de transformation au cours de laquelle le produit est mis en contact avec l'aliment ;
- Forme et conditions d'usage du produit : dose, température, pH, diluant, durée de contact, mode d'application (injection, aspersion, trempage, etc.) etc. ;
- Modalités de contrôle et de maîtrise des quantités de produit incorporées dans, ou appliquées sur, l'aliment au cours du procédé de fabrication;
- Modalités de contrôle et de maîtrise de la concentration du produit incorporé dans, ou appliqué sur, l'aliment au cours du procédé de fabrication (par exemple, si le traitement se fait par trempage, le produit antimicrobien peut être partiellement ou totalement neutralisé par la matière organique relarguée dans la solution de trempage, sa concentration s'en trouve diminuée et les micro-organismes peuvent alors s'accumuler voire se multiplier dans le liquide de trempage ; il faut donc prouver que ce dernier ne devient pas une source potentielle de contamination de l'aliment ; dans ce cas particulier, le renouvellement régulier de la solution peut être nécessaire) ;
- Identification des phases d'élimination du produit et/ou de ses composants au cours du procédé de transformation de l'aliment : élimination spontanée par dégradation, évaporation, séparation physique etc., ou volontairement obtenue par un procédé à préciser (par exemple, rinçage à l'eau potable, neutralisation² après traitement ?)

² Neutralisant (d'un désinfectant) : produit destiné à neutraliser les activités bactériostatiques et bactéricides d'un antiseptique ou d'un désinfectant.



5- Description des essais visant à évaluer l'efficacité du traitement proposé

5.1 Objectif des essais

Les essais visent à mettre en évidence une efficacité antimicrobienne et à justifier le choix des conditions d'application décrites dans le paragraphe 4.

Il faut un nombre suffisant d'essais indépendants pour pouvoir faire une exploitation statistique satisfaisante. Les tests statistiques les plus couramment utilisés nécessitent que les données suivent une loi normale et que les variances soient homogènes (hypothèse d'homocédasticité); il convient pour cela d'exprimer les dénombrements microbiologiques en logarithme décimal.

Les conditions d'application doivent permettre l'un des résultats suivants :

- une réduction statistiquement significative, comparativement à un même traitement sans le produit antimicrobien, immédiatement après traitement; chaque type d'aliment représentant un cas particulier, il est difficile de définir arbitrairement une amplitude de réduction logarithmique de la population initiale. A titre informatif, une chute de l'ordre de 2 log est communément obtenue dans les essais publiés sur contamination naturelle ;
- une différence statistiquement significative de la charge microbienne après un stockage de l'aliment (conservation dans des conditions de temps et de température raisonnablement comparables à celles rencontrées pendant la durée de vie de l'aliment), comparativement à celle d'un aliment ayant subi le même traitement sans le produit antimicrobien. L'attention est attirée sur le fait que l'évolution des équilibres microbiens peut être différent après un traitement (par exemple, la croissance d'un pathogène, pourrait être favorisée après une réduction d'une flore compétitive).

Lorsque les usages du produit visent une diminution de la charge microbienne globale, l'efficacité doit être évaluée au minimum sur la flore aérobie mésophile et sur la flore caractéristique de l'aliment concerné. Si une efficacité sur des espèces microbiennes spécifiées (micro-organismes pathogènes par exemple) est revendiquée et que la prévalence naturelle de ces micro-organismes (fréquence de contamination de l'aliment) est trop faible, l'efficacité doit être démontrée en laboratoire après contamination artificielle avec ces espèces microbiennes.

Lorsque le traitement proposé représente une alternative à des traitements antimicrobiens existants, des résultats d'essais comparatifs, à l'aveugle, doivent être fournis entre le traitement étudié et le traitement qu'il est susceptible de remplacer. Si l'efficacité du produit testé est inférieure à celle du traitement existant, le pétitionnaire doit préciser le(s) intérêt(s) du traitement proposé.

Lorsque le traitement proposé vise une diversité d'aliments, la représentativité des aliments testés devra être argumentée.



5.2 Les différents types d'essais

Les essais sont réalisés en conditions pilotes³.

On entend par conditions pilotes :

la reproduction, à une échelle réduite, d'un procédé industriel, les conditions technologiques étant reproduites le plus fidèlement possible à celles du procédé industriel. En particulier, si le procédé industriel de destination du produit est un procédé continu, les essais en condition pilote doivent être réalisés en continu sur une durée suffisante pour évaluer l'impact de l'utilisation du produit sur l'aliment et le procédé lui-même.

Lorsqu'il n'est techniquement pas possible de procéder à un essai en conditions pilotes, l'instruction du dossier peut être proposée en deux étapes :

1- Etape préparatoire

Présentation de résultats d'essai en conditions de laboratoire. Cette étape constitue un préalable indispensable aux essais en conditions normales d'utilisation. Il doit être indiqué dans le dossier s'il est envisagé que les aliments produits au cours de ces essais en conditions normales d'utilisation puissent être proposés à la consommation.

2- Instruction finale

Présentation de résultats des essais en conditions normales d'utilisation.

Dans tous les cas, les conditions des essais (durée de contact, températures, pH) doivent se rapprocher autant que possible des conditions d'utilisation prévues. Les caractéristiques du produit antimicrobien doivent être maîtrisées durant la totalité du procédé d'utilisation.

Cas particuliers :

- Les essais de laboratoires sont suffisants pour des produits à usage domestique.
- Dans le cas où le produit est déjà utilisé dans un autre pays de la Communauté européenne, les essais peuvent être réalisés soit en conditions pilotes, soit directement en conditions normales d'utilisation.
- Dans le cas particulier, où la dose est variable au cours du temps (par exemple, inactivation du produit en cours d'utilisation) les prélèvements doivent faire l'objet d'un plan d'échantillonnage permettant une exploitation statistique satisfaisante des résultats.

5.3 Exigences générales

Les informations suivantes doivent être données.

- Traitement antimicrobien :

- qualité du diluant (dureté, présence de chlore, matières organiques...)
- rapport quantité aliment/quantité solution de traitement
- pH de la solution avant traitement et en cours de traitement

- Récupération des micro-organismes sur aliments :

la technique du broyage péristaltique est recommandée ; en cas d'impossibilité, un prélèvement peut être réalisé à l'aide d'un écouvillon, ou d'une chiffonnette. Ces modalités devront être décrites de façon détaillée.

³ Les aliments obtenus en conditions de laboratoire ou en conditions pilotes ne sont pas destinés à être consommés.



5.4 Exigences spécifiques vis à vis des essais réalisés en laboratoire

Aux exigences générales, s'ajoutent les exigences suivantes.

- L'utilisation du produit pourrait avoir une efficacité différente selon la qualité de l'eau et le niveau de turbidité. L'eau des essais (diluant de l'antimicrobien et eau de rinçage après application de la solution antimicrobienne) doit être maîtrisée et se rapprocher des conditions d'usages les plus défavorables, raisonnablement prévisibles. Si la qualité de l'eau n'est pas prévisible, une dureté moyenne de 30° hydrotimétriques français est recommandée.
- Il est fortement recommandé que les essais soient entrepris par un laboratoire ayant mis en place un système d'assurance qualité.
- Exigences spécifiques aux essais sur contamination artificielle :
 - Après production d'un bouillon ou d'une suspension à partir d'un milieu gélosé, la préparation de la suspension microbienne contaminante doit être précédée par une série de lavages et centrifugations des cellules ou spores afin d'éviter le transfert de composants du milieu de culture qui pourraient interférer avec l'action de la substance anti-microbienne. La description devra être détaillée.
 - Le mode de contamination (ex : trempage) doit être décrit précisément.
 - La contamination de l'aliment doit être suivie d'une phase d'installation des micro-organismes qui doit être décrite ; cette phase doit éviter les conditions de stress des micro-organismes (déshydratation en particulier).
 - La référence des souches doit être précisée.
