

Direction de l'évaluation des risques

Groupe de travail
« Evaluation des substances et procédés soumis à autorisation en
alimentation humaine - ESPA »

Procès-verbal de la réunion
du « 17 octobre 2019 »

Considérant le décret n° 2012-745 du 9 mai 2012 relatif à la déclaration publique d'intérêts et à la transparence en matière de santé publique et de sécurité sanitaire, ce procès-verbal retranscrit de manière synthétique les débats d'un collectif d'experts qui conduisent à l'adoption de conclusions. Ces conclusions fondent un avis de l'Anses sur une question de santé publique et de sécurité sanitaire, préalablement à une décision administrative.
Les avis de l'Anses sont publiés sur son site internet (www.anses.fr).

Etaient présent(e)s :

- Membres
 - Mmes. Elmira Arab-Tehrany, Marie-Christine Chagnon, Véronique Coma, Anne Platel.
 - MM. Claude Atgié (président), Sébastien Antherieu, Michel Baccaunaud, Jalloul Bouajila, Nicolas Cabaton (vice-président), Ronan Cariou, Dany Chevalier, Michel Linder, Georges Lognay, Didier Montet, Philippe Saillard, Patrick Sauvegrain, François Zuber.
- Agents de l'Anses en charge du GT SPA.

Etaient excusé(e)s, parmi les membres du collectif d'experts :

- Mme. Florence Lacoste.
- MM. Franck Cleymand, Eric Marchioni.

Présidence

M Claude Atgié assure la présidence de la séance pour la journée.

1. ORDRE DU JOUR

Les expertises ayant fait l'objet d'une finalisation et d'une adoption des conclusions sont les suivantes :

1. Demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'extension d'utilisation de l'ozone dans l'eau, en tant qu'auxiliaire technologique, pour le lavage des salades prêtes à l'emploi (dites de 4ème gamme) (Saisine 2019-SA-0119).



2. GESTION DES RISQUES DE CONFLITS D'INTERETS

M. François Zuber se déclare en conflit d'intérêt sur la saisine 2019-SA-0119 qui sera examinée à cette occasion. M. Zuber quittera la salle de réunion pendant la discussion de la saisine sur laquelle il a déclaré un conflit d'intérêt.

L'analyse des liens déclarés des participants n'a pas mis en évidence d'autres risques de conflit d'intérêt au regard des points de l'ordre du jour mentionnés ci-dessus.

3. SYNTHESE DES DEBATS, DETAIL ET EXPLICATION DES VOTES, Y COMPRIS LES POSITIONS DIVERGENTES

Point 1.1

Synthèse des discussions du GT ESPA

Le GT ESPA est l'instance pilote en charge d'évaluer les aspects technologiques et sécurité sanitaire sur cette demande. Le CES BIORISK est en charge d'évaluer les aspects relatifs à l'efficacité décontaminant.

François Zuber quitte la salle de réunion pendant la discussion sur cette saisine. En raison du fait que M. Claude Atgié (président) est l'un des rapporteurs sur cette demande, M. Nicolas Cabaton (vice-président) préside ce point. Le président vérifie que le quorum est atteint avec 16 membres sur 19 ne présentant pas de risque de conflit d'intérêt au regard des points ayant fait l'objet d'une finalisation et d'une adoption des conclusions.

Les rapports des rapporteurs ont été présentés et discutés lors de la réunion du GT ESPA du 19 septembre 2019.

Le dossier présente une étude comparative avec un procédé industriel déjà en fonctionnement utilisant de l'eau chlorée pour le lavage de salades Icebergs. L'ozone a été utilisé en France pour traiter l'eau potable et, sous certaines conditions, le traitement des eaux minérales naturelles est autorisé dans l'Union européenne. L'utilisation de l'ozone en tant qu'auxiliaire technologique est déjà autorisée en France pour le traitement du blé avant mouture utilisé dans la formulation de produits de pâtisserie et de panification.

Selon le diagramme du procédé fourni dans le dossier de demande, l'ozone sera utilisé uniquement lors de l'opération unitaire (OU) de lavage des salades. L'ozone est dissous dans un bac d'eau contenant 100 L d'eau claire du réseau en maintenant un pH proche de 7 par injection de CO₂.

La demande d'autorisation d'emploi de l'ozone concerne son utilisation comme désinfectant de l'eau de lavage de salades et indirectement des salades. Les aspects relatifs à l'efficacité décontaminant ont été traités par le CES BIORISK (voir ci-après).

Des essais pilotes ont été réalisés en comparant l'ozonation avec la chloration des salades. Pour des raisons économiques des concentration-temps (CT) allant de 0,25 à 0,75 mg/min/L, ont été retenus pour ces essais, ce qui équivaut à des caractéristiques de lavage de la salade dans le test pilote avec un temps de lavage de 30 secondes, une concentration moyenne en ozone dissous au cours du lavage de 0,5 et 1,5 mg/L, pour une production de 200 kg de salade/h.

Des essais en conditions semi-industrielles ont également été réalisés, traitant 200 kg/h de laitue Iceberg, dans un bac de 3 mètres de longueur avec un flux d'eau de 70 m³/h, le temps moyen de lavage est estimé à 110 ± 51 secondes soit environ 2 minutes. La concentration moyenne d'ozone dissous dans l'eau du bac a été estimée à 0,23 mg/L ± 0,03.

Le GT ESPA observe qu'aucune valeur repère toxicologique par voie orale n'a pu être identifiée. Les études de toxicité de l'ozone sont essentiellement focalisées sur les effets toxiques aigus et



chroniques identifiés par inhalation, pour lesquels une valeur maximale d'exposition (VME) de 0,2 mg ozone/m³ d'air a été identifiée.

Le dossier de demande présente des résultats analytiques mesurant les résidus d'ozone dans l'eau résiduelle sur les salades. L'analyse des résidus d'ozone a été faite par la méthode spectrométrique carmin indigo trisulfonate et en récupérant par centrifugation l'eau de lavage résiduelle sur des échantillons (50 g) de lanières de salades à chacune des OU suivantes : salade témoin découpée non lavée, salade lavée dans l'eau chlorée (concentration de 15 mg/L, lavage environ 2 min pour tous les essais), salade lavée dans l'eau ozonée (CT 0,6 mg.min/L), salade lavée dans l'eau ozonée (CT 0,6 mg.min/L) et rincée, salade lavée dans l'eau ozonée (CT 0,6 mg.min/L), rincée et essorée et salade lavée dans l'eau ozonée (CT 0,6 mg.min/L), rincée, essorée et emballée. La limite de quantification (LOQ) de cette méthode analytique est de 128 µg d'ozone/L alors que la limite de détection (LOD) est de 4,76 µg d'ozone/L.

Les résultats des mesures en ozone résiduel dans l'eau récupérée à la surface de salades ont tous étaient inférieurs à la LOD de la méthode analytique appliquée.

L'estimation à l'exposition à l'ozone a été faite sur la base des valeurs de consommation de salades et laitues provenant de la base de données INCA 3, qui présente des valeurs pour les plus forts consommateurs adultes de 64,28 g par jour et de 23,13 g par jour pour les plus forts consommateurs enfants. Ces valeurs de consommation sont conservatrices car elles concernent toutes les salades confondues, en y incluant celles de 4^{ème} gamme vendues emballées mais aussi la consommation des salades non-emballées.

En appliquant la valeur résiduelle de 128 µg ozone/kg de salade comme valeur résiduelle d'ozone (correspondant à la LOQ de la méthode analytique) et prenant en compte une consommation de salade d'environ 64 g de salade par personne par jour, l'exposition théorique aux résidus d'ozone serait d'environ 8,2 µg par personne par jour.

Compte tenu qu'aucune valeur toxicologique de référence par voie orale pour l'ozone n'a pu être identifiée, et que les résidus des résidus d'ozone dans l'eau des salades sont tous inférieurs à la LOQ de la méthode analytique employée, la consommation de salades traitées à l'ozone a été comparée à la consommation des produits de grande consommation fabriqués avec des matières premières pour lesquelles l'emploi d'ozone est autorisé. Les produits concernés par ce traitement sont les produits de pain et panification sèche et les pâtisseries et gâteaux fabriqués avec des grains de blé traité avec l'ozone avant mouture.

La consommation de pains et produits de panification sèche en France sont pour les plus forts consommateurs adultes de 266 g/jour et à environ 150 g/jour pour les plus forts consommateurs enfants. Les consommations de pâtisseries et gâteaux quant à elles sont estimées en France, respectivement, à environ 365 g/jour et 109 g/jour. La consommation de salades lavées avec de l'eau contenant de l'ozone est donc inférieure (64 g/jour) à celle d'autres produits fabriqués avec des matières premières traitées à l'ozone.

La totalité des données analysées dans l'avis a permis d'estimer que la consommation de salades lavées avec de l'eau ozonée ne présente pas plus de risque sanitaire que la consommation des salades lavées avec de l'eau chlorée.

Des analyses ont aussi été conduites pour comparer les niveaux des bromates (BrO³⁻), des bromures (Br⁻) et d'AOX produits par le traitement à l'ozone, tant dans l'eau de lavage que dans l'eau retenue sur les salades, comparées avec le traitement au chlore.

Les concentrations en bromates ou en bromures dans les eaux de lavage chlorées ou ozonées sont inférieures au LOD des méthodes analytiques appliquées (0,2 mg /L pour les Br⁻ et 10 µg /L pour les BrO₃⁻). De même, les résultats analytiques sur les AOX dans les eaux de lavage traitées à l'ozone sont tous inférieurs à la LOD de la méthode analytique appliquée. Le GT SPA rappelle que la limite de qualité pour l'eau en bromates est de 10 µg/L¹.

¹ ANSES. Fiche 20 : Evaluation des risques sanitaires liés au dépassement des limites de qualité des bromates dans les eaux destinées à la consommation humaine. Limite de qualité (à partir du 25 décembre 2008) : 10 µg/L. Saisine 2004-SA-0063.



Des analyses sur d'autres substances néoformées ont été conduites afin d'établir si le traitement à l'ozone affecte leurs niveaux dans les salades. A cette fin, des marqueurs d'oxydation des composants majeurs des salades ont été mesurés. Ces marqueurs étaient : l'acide ascorbique et l'acide déhydroascorbique ainsi que les polyphénols totaux.

Les résultats obtenus sur la majorité de lots testés, en comparaison des salades témoins non traitées, ne montrent pas de différences majeures dans les taux des substances mesurées.

En conclusion, le GT ESPA a estimé recevable l'approche indirecte proposée par le pétitionnaire, visant à comparer les niveaux d'exposition à l'ozone avec ceux provenant de la consommation des produits fabriqués à partir des grains de blés traités par le procédé à l'ozone, pour écarter un risque toxicologique lié à la présence des résidus d'ozone dans les salades traitées.

Par ailleurs, compte tenu de la maîtrise du procédé, l'utilisation de l'ozone pour le lavage des salades ne présente pas plus de risque pour le consommateur que la consommation de salades traitées avec de l'eau chlorée.

Le GT ESPA recommande que les eaux résiduelles sur les salades respectent la limite de qualité de l'eau, notamment avec une surveillance particulière des concentrations en ions bromates dont la limite a été fixée à 10 µg/L.

Le GT ESPA préconise aussi la mise en place de procédures pour les personnes en poste proches des bacs de lavage en présence d'eau ozonée (présence de bullage pour augmenter la convection et le cheminement des salades).

Les aspects relatifs à l'efficacité décontaminant ont été traités par le CES BIORISK. Le GT ESPA endosse les conclusions du CES BIORISK (cf ci-dessous).

La partie physico-chimique de l'avis est présentée à cette réunion, discuté puis l'avis est validé à l'unanimité par les membres présents du GT ESPA.

Synthèse des discussions du CES BIORISK

Réunion du 9 septembre 2019

Les quatre rapporteurs présentent le rapport initial. Les points suivants sont discutés en séance.

L'objectif de l'utilisation de l'ozone sur la charge microbienne des salades et/ou sur la maîtrise de la charge microbienne des eaux de lavage au cours du temps n'est pas explicitement mentionné dans le dossier du pétitionnaire, mais son utilisation est envisagée comme alternative à l'eau chlorée dans l'eau de lavage des salades de 4^e gamme.

L'étude bibliographique (>50 références) décrit l'efficacité de l'ozone sur différents microorganismes sans cibler particulièrement ceux contaminant les salades.

Les microorganismes aérobies mésophiles, les entérobactéries, les levures-moisissures ont été suivies lors des pré-essais et des essais industriels. La flore lactique n'a été analysée que lors des pré-essais. Pour les essais pilotes, les bactéries ont été sélectionnées car elles font partie des critères microbiologiques du Règlement (CE) n°2073/2005 (*E. coli*, *Salmonella* et *Listeria monocytogenes*). Pour les parasites protozoaires et les virus entériques, si le choix proposé n'est pas justifié, il apparaît pertinent au regard des données épidémiologiques.

Dans les conditions testées en essai pilote, l'effet de l'ozone sur ces microorganismes montre :

- un simple décrochage des oocystes de *Cryptosporidium* de la matrice alimentaire sans effet létal.
- 0,5 à 0,7 réduction décimale sur le phage MS2, en plus de l'effet de décrochage (1,4 à 2 log par effet mécanique).
- 0,6 à 1 réduction décimale pour les bactéries (*E. coli*, *Salmonella*, *Listeria*) sans qu'il soit possible de distinguer les effets de décrochage et de bactéricidie.



Dans les eaux de lavage et dans les conditions testées sur 150 min, les essais industriels tendent à montrer un effet similaire pour un lavage ozoné et un lavage chloré sur les microorganismes aérobies mésophiles ($< 100 \text{ UFC.mL}^{-1}$ sur 150 min) dans les eaux de lavage. Concernant la qualité microbiologique des salades, un effet similaire de l'utilisation des auxiliaires technologiques sur l'évolution des microorganismes est également observé.

Le dossier ne démontre pas si l'utilisation de l'ozone sur une journée de production reste compatible avec la bonne qualité microbiologique des produits :

- le maintien d'une concentration cible en ozone (et donc le CT) dans le bac de lavage au cours du temps nécessite une bonne maîtrise de l'installation. Il n'a pas été démontré dans le dossier que le CT ozone retenu par la demande puisse être maintenu pendant au moins 150 min, ni pendant une durée de production classique.
- le pétitionnaire propose que le temps de séjour de la salade dans le bac de lavage soit de 30 s et non de 2 min comme testé lors des essais sur ligne semi-industrielle, ce qui implique d'augmenter la concentration en ozone, condition qui n'a pas pu être testée pendant les essais.

Plus généralement, le petit nombre d'essais, l'absence de certains témoins et d'analyse statistique ainsi que des écarts-types élevés obtenus ne permettent pas d'émettre de conclusions définitives. Sans comparaison avec un témoin de lavage à l'eau potable, il est impossible de conclure sur un effet décontaminant de l'ozone dans les conditions testées.

Réunion du CES BIORISK du 16 octobre 2019

Les échanges ont porté sur :

- le choix de l'indicateur et du seuil fixé par le pétitionnaire pour qualifier la qualité des eaux de lavage. Il est proposé de faire figurer une note précisant que « Dans la note d'information de la Commission Européenne concernant la gestion des risques microbiologiques des fruits et légumes frais au stade de la production primaire (2017/C163/01), il est spécifié que les eaux utilisées pour le premier lavage des fruits et légumes dans le cas des produits prêts à consommer, doivent avoir une concentration en *E. coli* inférieure à 100 UFC dans 100 ml. »
- la représentativité de l'essai semi-industriel au regard des données microbiologiques.

Des modifications de forme sont intégrées dans le document de Synthèse et Conclusions du CES BIORISK.

Conclusion de l'expertise collective du CES BIORISK

Concernant les aspects microbiologiques, dans les conditions testées, les essais tendent à montrer un effet similaire entre un lavage à l'eau ozonée (CT compris entre 0,22 et 0,75 mg.min.L⁻¹) et un lavage à l'eau chlorée (CT cible de 30 mg.min.L⁻¹) sur le maintien de la qualité microbiologique des eaux de lavage, en-dessous d'un seuil cible fixé par le pétitionnaire (100 UFC.mL^{-1} pour les microorganismes aérobies mésophiles). Concernant les salades, la qualité microbiologique après lavage à l'eau ozonée semble être similaire à celle obtenue après lavage à l'eau chlorée.

Le CES BIORISK regrette le petit nombre de réplicats et l'absence de certains témoins expérimentaux ce qui ne permet pas de conclure sur la base d'une analyse statistique quant à l'efficacité antimicrobienne du procédé.

Les experts du CES BIORISK adoptent à l'unanimité les conclusions de l'expertise relative à l'efficacité antimicrobienne de la demande d'autorisation d'extension d'utilisation de l'ozone dans l'eau, en tant qu'auxiliaire technologique, pour le lavage des salades prêtes à l'emploi (dites de 4^e gamme).



Procès-verbal du GT ESPA – 17/10/2019
M. le professeur Claude ATGIE, président du GT ESPA