

Maisons-Alfort, le 20 novembre 2009

AVIS

sur la mise en place d'un plan de surveillance sur les carcasses de volailles portant sur les critères indicateurs d'hygiène du procédé d'abattage

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

1- Rappel de la saisine

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 16/02/2009 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) d'une demande d'avis sur la mise en place d'un plan de surveillance portant sur les critères indicateurs de contamination d'origine digestive sur les carcasses de volailles.

2- Contexte de la demande

2-1. Contexte réglementaire

Le règlement (CE) n°2073/2005, modifié par le règlement (CE) n° 1141/2007, donne les critères microbiologiques de sécurité et d'hygiène des procédés. Pour les abattoirs, le règlement établit les critères d'hygiène des procédés qui doivent être utilisés pour assurer que les procédés de production fonctionnent correctement.

Pour les abattoirs de poulet et de dindes, le critère actuel d'hygiène du procédé est le suivant : absence de *Salmonella* dans 25 g d'un échantillon de trois peaux de cou groupées avec n=50 et c=7. En cas de résultats insatisfaisants, des actions (sous la responsabilité des établissements d'abattage) doivent être menées pour améliorer l'hygiène de l'abattage. Ces résultats doivent également conduire à réexaminer l'origine des animaux et les mesures de biosécurité dans les exploitations d'origine.

Il n'existe qu'un seul critère d'hygiène des procédés pour les carcasses de volaille dans ce règlement. Les filières porcines et bovines font, par contre, l'objet d'une recherche de plusieurs indicateurs.

3-2. Problématique

Selon la Direction générale de l'alimentation (DGAI), le respect du critère actuel ne permet pas de vérifier que l'hygiène du procédé d'abattage est maîtrisée. Le respect de ce critère d'hygiène des procédés pourrait créer une fausse sécurité car la prévalence de *Salmonella* est faible dans les élevages.

De plus, selon la DGAI, il existe également un inconvénient à utiliser un micro-organisme pathogène comme critère indicateur d'hygiène.

3- Questions posées

Question 1 : La DGAI souhaite l'avis de l'Afssa pour déterminer quel micro-organisme, autre que *Salmonella*, serait pertinent pour suivre les contaminations d'origine digestive.

Question 2 : La DGAI souhaite également l'appui de l'Afssa pour établir un plan de surveillance permettant de :

- Vérifier le respect du critère d'hygiène du procédé défini actuellement dans le règlement européen n°2073/2005 ;

- Connaître la fréquence et les niveaux de contamination du micro-organisme déterminé à la question 1,
- Comparer les résultats (prévalence, niveaux de contamination) obtenus par les laboratoires non accrédités en charge des autocontrôles réalisés à l'abattoir à ceux des résultats du plan de surveillance.

4- Méthode d'expertise

Cet avis s'appuie sur les informations scientifiques disponibles dans la bibliographie (cf. 7. Références bibliographiques) et sur un document réalisé en concertation entre le comité d'experts spécialisé (CES) « Microbiologie », et l'Unité d'appréciation quantitative du risque et épidémiologie en microbiologie et santé animale (AQR-MSA) de la Direction à l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires (DERNS). Après consultation du CES « Microbiologie » le 9 novembre 2009, l'Afssa rend l'avis suivant.

5- Réponses

5-1. Les critères d'hygiène des procédés utilisés à l'abattoir

L'origine des bactéries sur une carcasse de volaille à la fin du procédé est diverse (1, 11, 19, 28) ; la contamination par des bactéries présentes sur les plumes et la peau, dans le contenu digestif et/ou par contact avec les autres carcasses ou le matériel intervient à différentes étapes de la chaîne d'abattage, notamment la plumaison (4, 5, 21, 26), le bain d'échaudage (10, 21), ou l'éviscération (21, 28). La contamination des carcasses par l'air n'est pas non plus à négliger (3, 8).

L'intérêt comme indicateur des différents micro-organismes est analysé ci-après : certains sont révélateurs de l'hygiène globale du procédé d'abattage, d'autres sont plus spécifiques d'une contamination d'origine digestive ou encore de la colonisation des équipements de la chaîne d'abattage.

- *Campylobacter* thermotolérants

Campylobacter spp est un indicateur spécifique de la contamination d'origine digestive (22, 24). *Campylobacter* peut toutefois persister sur les équipements après les opérations d'hygiène et entraîner la contamination d'autres lots de volailles (22, 24). Il est à noter que *Campylobacter* a un potentiel de colonisation faible des équipements et que le nombre de *Campylobacter* sur le matériel décroît au cours du temps (30).

Campylobacter pourrait, au même titre que *Salmonella*, servir d'indicateur d'hygiène d'une contamination d'origine digestive. Contrairement à *Salmonella*, la prévalence chez les volailles arrivant à l'abattoir est élevée, de l'ordre de 70% (1). Les niveaux de contamination atteints sur les carcasses permettent également de dénombrer *Campylobacter*. Toutefois, les différents plans de surveillance réalisés au niveau des élevages, de la production ou de la distribution semblent montrer un effet important de la saison sur la présence de *Campylobacter* (1, 18, 20, 23, 31). Par exemple, van Asselt et al. (31) ont montré un doublement de la prévalence selon la saison considérée.

- *Clostridium perfringens*

L'incidence de *C. perfringens* dans le système digestif des volailles est élevée, vraisemblablement supérieure à 75% (33), et la prévalence sur les viandes de volailles varie entre 18% (23) et 84% (33). Il existe peu de données quant aux niveaux de quantification.

- *Escherichia coli*

Les industriels et les autorités de contrôle ont reconnu l'intérêt d'utiliser *E. coli* dans les abattoirs de volailles comme indicateur de contamination d'origine digestive (6, 7, 16, 17). Ce dernier point est confirmé par le fait que *E. coli* a un faible potentiel de colonisation des équipements de la chaîne d'abattage (25). La prévalence de *E. coli* sur les carcasses après refroidissement est proche de 100% (17, 23). Les concentrations moyennes varient entre 2,9 et 3,4 log₁₀ (ufc/cm²) (23).

- Coliformes et *Enterobacteriaceae*

Les coliformes et les *Enterobacteriaceae* sont également utilisés comme critères d'hygiène des procédés (7, 17, 21, 23). Les *Enterobacteriaceae* sont considérées comme un indicateur de contamination d'origine fécale et de contamination par l'environnement, en effet de nombreuses d'espèces de ce groupe peuvent persister dans l'environnement (17, 25). Les prévalences et les dénombrements en *Enterobacteriaceae* sont du même ordre de grandeur que ceux pour *E. coli* (21). Lindbald et al. (23) ont montré que les dénombrements en *E. coli* peuvent parfois être supérieurs à ceux observés pour les *Enterobacteriaceae*. Les méthodes analytiques employées pour le dénombrement dans cette dernière étude peuvent expliquer cet écart. En effet, une phase de pré-enrichissement a été utilisée pour *E. coli*, laissant la possibilité à des bactéries en état de stress de cultiver sur le milieu sélectif utilisé. Les auteurs concluent également que *E. coli* est la flore majoritaire parmi les *Enterobacteriaceae* présentes. Dans une étude réalisée dans des abattoirs canadiens (7), il a été montré que les niveaux de coliformes sont également proches de ceux de *E. coli*.

- *Enterococcus*

Enterococcus est considéré comme un indicateur de contamination d'origine fécale (23). D'après Lindblad et al. (23), dans une étude réalisée en Suède, la prévalence de ce micro-organisme sur les carcasses de volailles est proche de 100%. La plupart des dénombrements sont compris entre 0,5 et $3 \log_{10}$ (ufc/cm²) et sont donc inférieurs à ceux observés pour *E. coli* et les *Enterobacteriaceae*.

- La flore totale

La flore totale est un critère usuel d'hygiène des procédés dans les abattoirs (7, 17, 21, 23). Cet indicateur, bien que directement corrélé aux dénombrements des *E. coli* (17), est davantage révélateur de l'hygiène générale des procédés qu'un indicateur spécifique de la contamination d'origine fécale. Les niveaux moyens de flore totale varient entre 4,7 et 5,5 \log_{10} (ufc/g) (17, 21).

- *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes peut persister dans l'environnement des abattoirs, et une prévalence élevée peut être le signe d'une insuffisance des bonnes pratiques d'hygiène (23). Les études montrent (23) que la prévalence peut s'élever à 30% sur les carcasses de volailles.

- *Pseudomonas* spp.

Pseudomonas peut être également utilisé comme indicateur d'hygiène des procédés (17, 21). Plus particulièrement, *Pseudomonas* peut être un indicateur de la maîtrise de la réfrigération (21) et de l'efficacité des opérations d'hygiène.

La prévalence est importante et les niveaux de concentrations moyens sont proches de 4,5 \log_{10} CFU/g selon Ghafir et al. (17) et varient entre 2 to 5 \log_{10} CFU/g selon Hutchison et al. (21). Dans ces deux études, les concentrations sont supérieures à celles observées pour *E. coli* et les *Enterobacteriaceae*. Ghafir et al. (17) ont montré que les probabilités de présence de *Salmonella* et *Campylobacter* étaient significativement plus fortes quand les niveaux de *Pseudomonas* étaient faibles.

- *Salmonella* spp.

Salmonella spp. est le critère d'hygiène des procédés imposé par le règlement communautaire n° 2073/2005. C'est un indicateur de contamination d'origine fécale des volailles. *Salmonella* peut également persister sur les équipements après les opérations d'hygiène et entraîner la contamination d'autres lots de volailles (9, 13, 27).

Toutefois, une prévalence faible ou une absence de *Salmonella* chez les volailles (p_1) arrivant à l'abattoir peuvent également conduire à une prévalence faible sur les carcasses en fin de chaîne (p_2) et ce même si l'hygiène de l'abattage est incorrecte.

Le protocole d'échantillonnage du critère microbiologique tel qu'il est actuellement appliqué est le suivant : chaque semaine, plusieurs échantillons d'environ 10 g de peaux de cou sont prélevés, ces peaux de cou sont réparties en 5 échantillons de 25 g dans chacun desquels *Salmonella* sera recherchée (présence/absence). Sur les résultats cumulés des dix dernières semaines (10 semaines x 5

échantillons), le nombre de présence de *Salmonella* doit être inférieur ou égal à 7 ($c = 7$). Si c est supérieur à 7, des mesures particulières doivent être prises pour renforcer l'hygiène.

La Figure 1 montre l'influence de la prévalence sur les carcasses individuelles de volailles en fin de chaîne d'abattage (P2) sur la probabilité de dépasser le critère. La formule de calcul de la probabilité de dépassement du critère a été calculée (cf. annexe 1a). Pour des prévalences inférieures à 1% la probabilité de ne pas respecter le critère est inférieure à 0,0001.

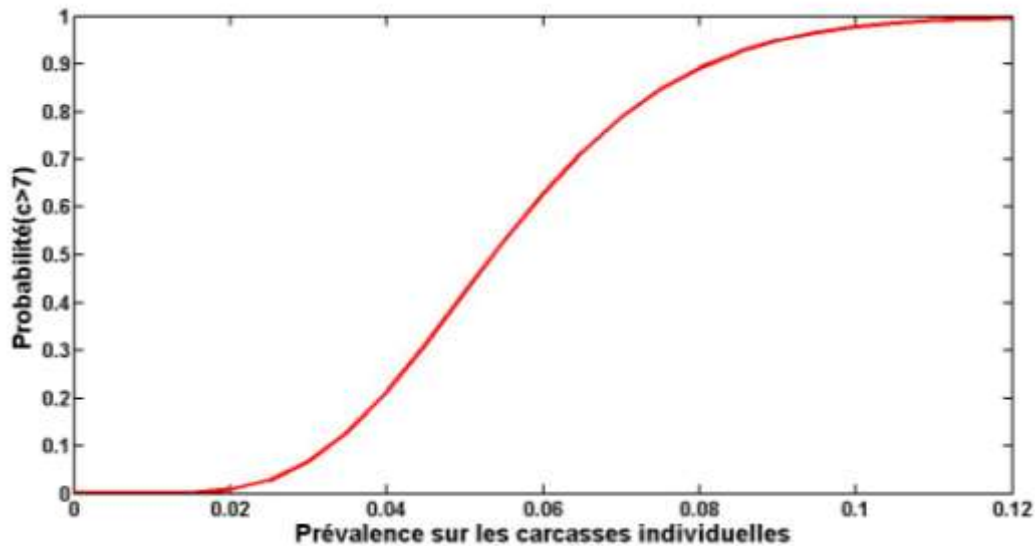


Figure 1. Influence de la prévalence de *Salmonella* sur les carcasses individuelles en fin de chaîne sur la probabilité de dépasser le critère du règlement (CE) n°2073/2005

En outre, il semble qu'il existe une saisonnalité de la contamination en *Salmonella* chez les volailles arrivant à l'abattoir (32). La probabilité de dépassement du critère serait donc dépendante d'un phénomène non uniquement relié à l'hygiène du procédé d'abattage.

- *Staphylococcus aureus*

S. aureus peut persister dans l'environnement des abattoirs, en particulier au niveau des plumeuses, et une prévalence élevée peut être le signe d'une insuffisance des bonnes pratiques d'hygiène (23). Toutefois la présence de *Staphylococcus aureus* peut-être reliée aux statuts sanitaires (ostéomyélite, arthrite, synovite) des volailles arrivant à l'abattoir (12). La prévalence sur les carcasses peut atteindre 66%, et les niveaux de contamination pour les carcasses contaminées sont majoritairement comprises entre 0,2 et 3,5 \log_{10} (ufc/cm²) (23).

5-2. Choix de la flore indicatrice d'une contamination d'origine fécale

Selon le règlement (CE) n°2073/2005, un critère d'hygiène du procédé est « un critère indiquant l'acceptabilité du fonctionnement du procédé de production. Un tel critère n'est pas applicable aux produits mis sur le marché. Il fixe une valeur indicative de contamination dont le dépassement exige des mesures correctives destinées à maintenir l'hygiène du procédé conformément à la législation sur les denrées alimentaires ».

Plus généralement, les critères d'hygiène des procédés peuvent être utilisés à différentes fins : (i) l'évaluation ponctuelle de la maîtrise d'un procédé de fabrication, (ii) la validation de l'efficacité des bonnes pratiques d'hygiène lors de leur mise en place, (iii) la surveillance de l'efficacité des bonnes

pratiques d'hygiène afin de détecter d'éventuelles dérives et (iv) la vérification de l'efficacité de bonnes pratiques d'hygiène (2).

Si la prévalence et la concentration du micro-organisme recherché dans le tube digestif des volailles arrivant à l'abattoir sont élevées et stables au cours du temps, alors les variations de dénombrement sur les carcasses au sein d'un établissement ou entre établissements sont susceptibles d'être attribuables à la maîtrise des contaminations d'origine digestive.

Compte-tenu des critères listés ci-dessus (spécificité de la contamination d'origine digestive, prévalence élevée chez les volailles, etc.) : *Campylobacter*, *E. coli* et les *Enterobacteriaceae* sont les meilleurs candidats comme flore indicatrice d'une contamination d'origine fécale.

E. coli semble être plus spécifique de cette source de contamination que les *Enterobacteriaceae*. *E. coli* présente également l'avantage d'être déjà utilisé par les professionnels dans leur guide de bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP (16). Les *Campylobacter* thermotolérants sont également d'intérêt mais la possible variation saisonnière chez les volailles vivantes rendrait l'interprétation plus difficile en fin de chaîne d'abattage.

L'Afssa recommande donc d'effectuer le dénombrement de *E. coli*, des *Enterobacteriaceae* et des *Campylobacter* thermotolérants pour ce plan de surveillance.

En outre, il est à noter que dans le règlement (CE) n°2073/2005 modifié, il existe plusieurs indicateurs de l'hygiène du procédé d'abattage pour les carcasses de bovins, porcins et petits ruminants. Chaque indicateur apporte une information différente sur la maîtrise de l'hygiène (par exemple : contamination fécale, maîtrise du refroidissement, hygiène des locaux, etc.). En conséquence, le CES « Microbiologie » recommande également pour ce plan de surveillance le dénombrement d'une flore indicatrice de l'hygiène générale du procédé d'abattage. La flore totale aérobie et *Pseudomonas* apparaissent être les plus appropriées.

5-3. Plan de surveillance

5-3.1 Impact du nombre d'échantillons

- *Salmonella*

Le choix du nombre d'échantillons peut-être basé sur des considérations statistiques ou non statistiques (moyens à disposition, temps de l'étude, etc.).

Sur des bases statistiques, trois facteurs déterminent le nombre d'échantillons pour une enquête faite dans une population :

- la prévalence estimée de la variable étudiée (p)
- le niveau de confiance souhaité (α)
- la marge d'erreur acceptable ou marge d'erreur tolérée (δ)

Pour un modèle d'enquête fondé sur un échantillonnage aléatoire simple, on peut calculer le nombre d'échantillons requis en appliquant la formule suivante (14) :

$$N = \frac{Z_{\alpha}^2(1-p)p}{\delta^2}$$

où Z_{α} est lu dans la table de la loi normale centrée réduite correspondant au niveau de confiance α souhaité.

Cette formule de calcul du nombre d'échantillon dépend donc directement de la prévalence que l'on cherche à estimer. Si l'on a pas de notion de l'ordre de grandeur réel de la valeur de p , une valeur de 0,5 peut-être choisie. C'est en effet avec cette valeur que la taille de l'échantillon calculé N sera maximale.

La Figure 2 illustre l'impact de la marge d'erreur acceptable sur le nombre d'échantillons nécessaire pour déterminer p avec un niveau de confiance à 95%. Un niveau de confiance α à 95% et une marge

d'erreur acceptable (δ) à 5%, conformément aux recommandations de l'Efsa (15), peuvent être choisis. Dans ce cas les 500 échantillons seront suffisants pour répondre à cet objectif. Si la prévalence est inférieure à 5%, ce qui est vraisemblable, la marge d'erreur sur cette prévalence sera inférieure à 2%.

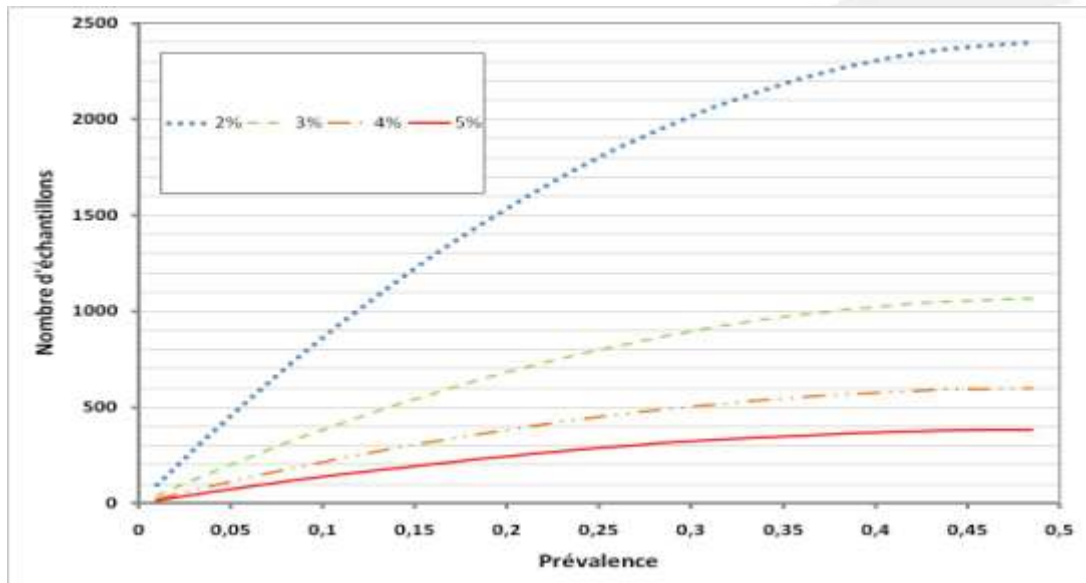


Figure 2. Influence de la marge d'erreur tolérée (2 à 5%) sur le nombre d'échantillons à prélever pour des prévalences à un niveau de confiance à 95%

Actuellement, la recherche de *Salmonella* est réalisée dans des échantillons composés de trois peaux de cou (nombre nécessaire pour avoir 25 g). La prévalence sur ces échantillons est directement corrélée à la prévalence individuelle (Annexe 1b et Figure 3).

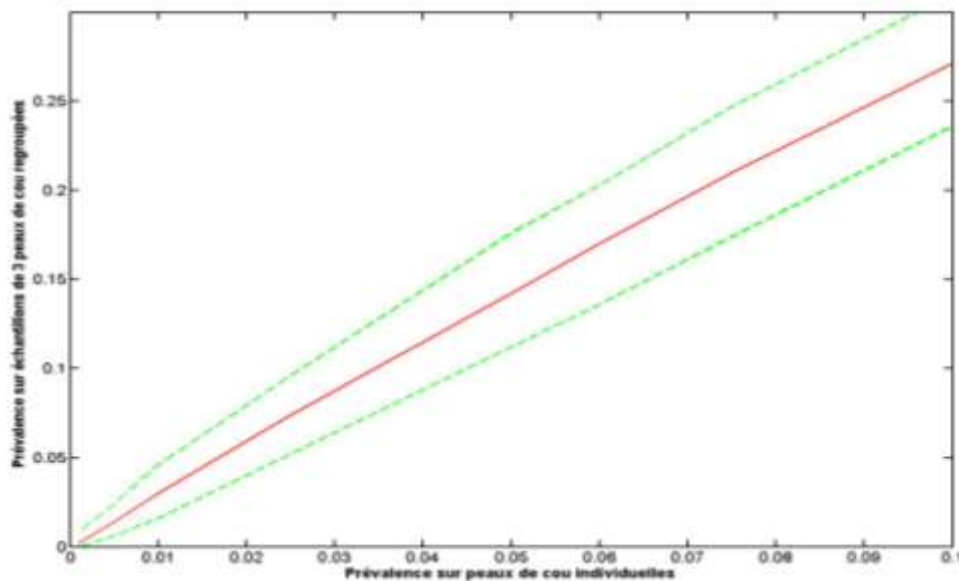


Figure 3. Prévalence sur des échantillons (N=500) composés de 3 peaux de cou en fonction de la prévalence sur les peaux de cou individuelles. (—) médiane, (- - -) 2,5 et 97,5^{ème} percentiles.

- Autre flores recherchées

Les valeurs m et M (si un plan à trois classes est retenu) du futur critère indicateur du procédé seront à déterminer à l'issue du plan de surveillance. Les percentiles des résultats du plan peuvent être utilisés pour la détermination de m et M du futur critère microbiologique (17).

Le nombre d'échantillons prélevé a un impact direct sur l'incertitude de l'estimation des percentiles des niveaux de contamination. A titre d'exemple, l'influence du nombre d'échantillons sur l'incertitude du 75^{ème} et 95^{ème} percentiles est présentée sur la Figure 4. Pour 500 échantillons, l'estimation de ces percentiles semble raisonnable, compte-tenu de l'écart type attendu.

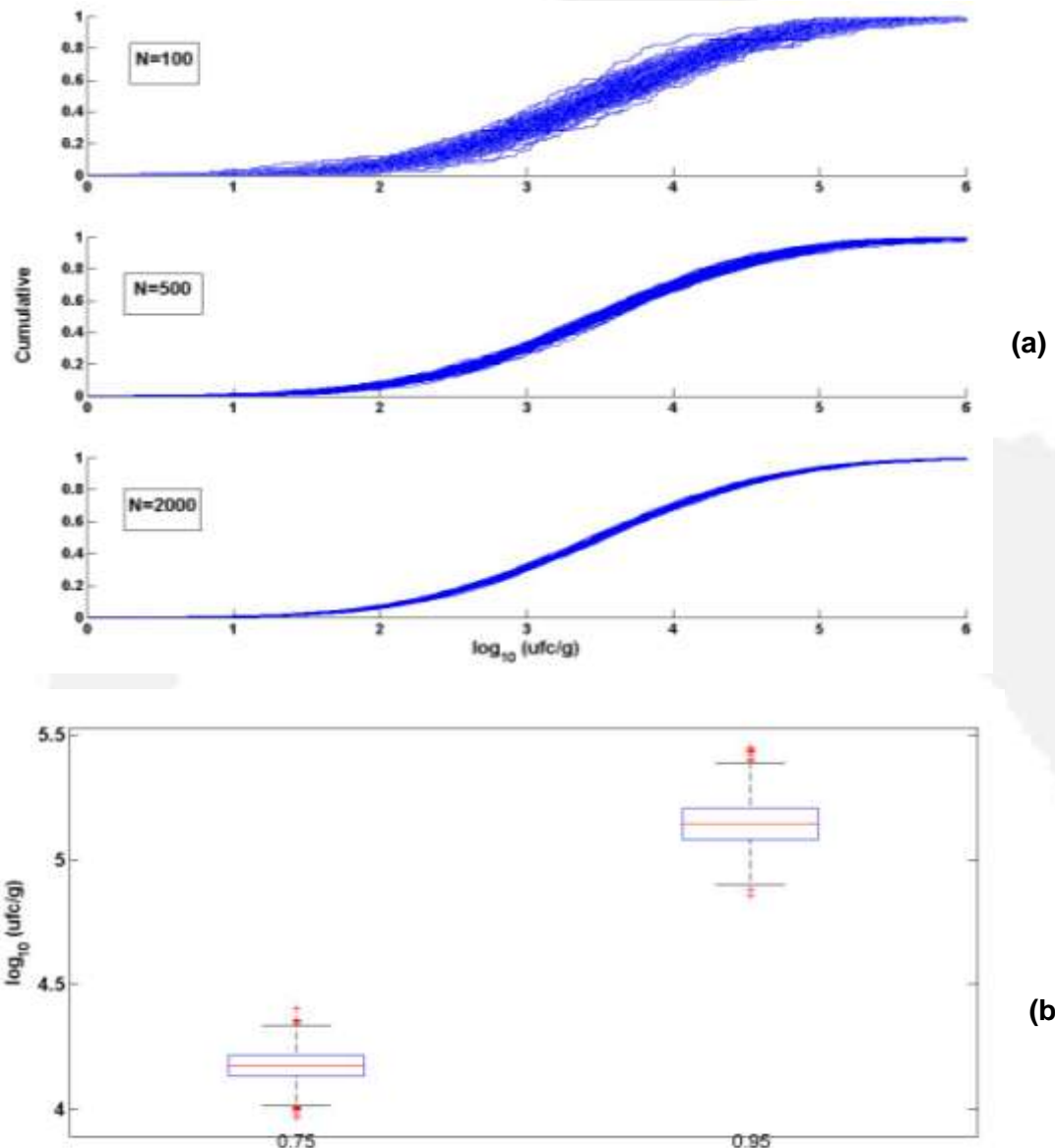


Figure 4. (a) Impact du nombre d'échantillon (N) sur la distribution cumulative des dénombrements (en $\log_{10}(\text{ufc/g})$) issus d'une loi Normale $N(3,5 ; 1)$. (b) Distributions des valeurs prises par le 75^{ème} et 95^{ème} percentiles pour $N=500$. Médiane (trait épais), limites de boîte : quartiles 0.25 et 0.75, et des moustaches qui s'étendent par défaut jusqu'à la valeur distante d'au maximum 1,5 fois la distance interquartile.

5-3.2 Réalisation des prélèvements

Il est proposé de réaliser :

- 500 recherches de *Salmonella* ;
- 500 dénombrements de chacune des flores suivantes : *E. coli* ; les *Enterobacteriaceae*, et les *Campylobacter* thermo-tolérants.
- 500 dénombrements pour la flore totale et pour *Pseudomonas*.

Ces recherches et dénombrements seront réalisés sur des échantillons composés de trois peaux de cou. Il est proposé de se rendre 100 fois dans les abattoirs de plus de 1000 tonnes sur l'année 2010 selon la méthode décrite en 5-3.3. Au cours de chacune de ces visites, environ 10 g de peau de cou (cf. Figure 5) seront prélevés aseptiquement sur 15 carcasses (après refroidissement). Les peaux de cou de 3 carcasses sont regroupées. Elles constituent un échantillon (de 25 g) qui sera analysé (donc cinq échantillons pour l'abattoir visité le jour choisi).

Les échantillons doivent être conservés entre 0 et 4°C. Le temps entre le prélèvement et l'analyse microbiologique ne doit pas excéder 24 h.

Chacun de ces échantillons devra faire l'objet des analyses microbiologiques suivantes :

- Recherche de *Salmonella* selon la norme ISO 6579 « Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. »
- Dénombrement de *E. coli* selon la norme ISO 16649-1 ou 2 « Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* bêta-glucuronidase positive »
- Dénombrement des *Enterobacteriaceae* selon la norme ISO 21528-2 « Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* ».
- Recherche et dénombrement des *Campylobacter* spp. selon la méthode NF EN ISO 10272 « Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Campylobacter* spp. »
- Dénombrement de la flore totale aérobie ISO 4833 « Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes -- Technique de comptage des colonies à 30 degrés C »
- Dénombrement des *Pseudomonas* selon la norme ISO 13720 « Viande et produits à base de viande -- Dénombrement de *Pseudomonas* spp. »



D'après (29)

Figure 5. Prélèvement aseptique d'une peau de cou de poulet.

Pour chaque prélèvement les informations suivantes devraient être relevées :

- Informations sur l'abattoir : abattoir, jour, heure, catégorie ;

- Informations sur les volailles : espèce prélevée, autres informations disponibles sur l'origine des volailles (âge, qualité, autres informations jugées utiles), numéro de bande ;
- Informations sur le procédé d'abattage et refroidissement : cadence, lavage des carcasses en fin de chaîne, caractéristiques du refroidissement appliqué (température, temps) ;
- Historiques des autocontrôles microbiologiques des abattoirs : 10 derniers résultats de recherche de *Salmonella* réalisés par l'entreprise, et 10 derniers résultats réalisés par les professionnels sur une (ou plusieurs) autre(s) flore(s) indicatrice(s) d'hygiène (*E. coli*, *Staphylococcus*, etc.) ;
- A titre exploratoire, afin de vérifier une éventuelle corrélation entre d'une part la perception de l'efficacité des bonnes pratiques d'hygiène et de l'éviscération et d'autre part les résultats microbiologiques, il est proposé de faire une appréciation qualitative du niveau général d'hygiène et de la maîtrise de l'éviscération. Les qualificatifs (pour chacun des deux items), renseignés par le vétérinaire officiel de l'abattoir, seront choisis parmi les expressions suivantes : « très insuffisant », « insuffisant », « satisfaisant » et « très satisfaisant ».

5-3.3 Tirage au sort des abattoirs

La liste des abattoirs de plus de 1000 tonnes a été fournie par la DGAI. Si l'on classe les abattoirs (de la catégorie des plus de 1000 tonnes) par le tonnage de volailles abattues par an, les 18 premiers abattoirs représentent près de 50% de la production et la moitié des abattoirs contribuent à plus de 85 % de la production (dans la catégorie des plus de 1000 tonnes, cf. Figure 6).

Les abattoirs ont été tirés au sort (tirage au sort avec remise) en fonction de leur tonnage de production (tirage au sort à probabilité inégale).

Au total 50 abattoirs parmi les 92 feront l'objet de prélèvements. Le nombre d'échantillons attribués à ces abattoirs est directement relié à la part de ces abattoirs dans la production totale (des abattoirs de cette catégorie).

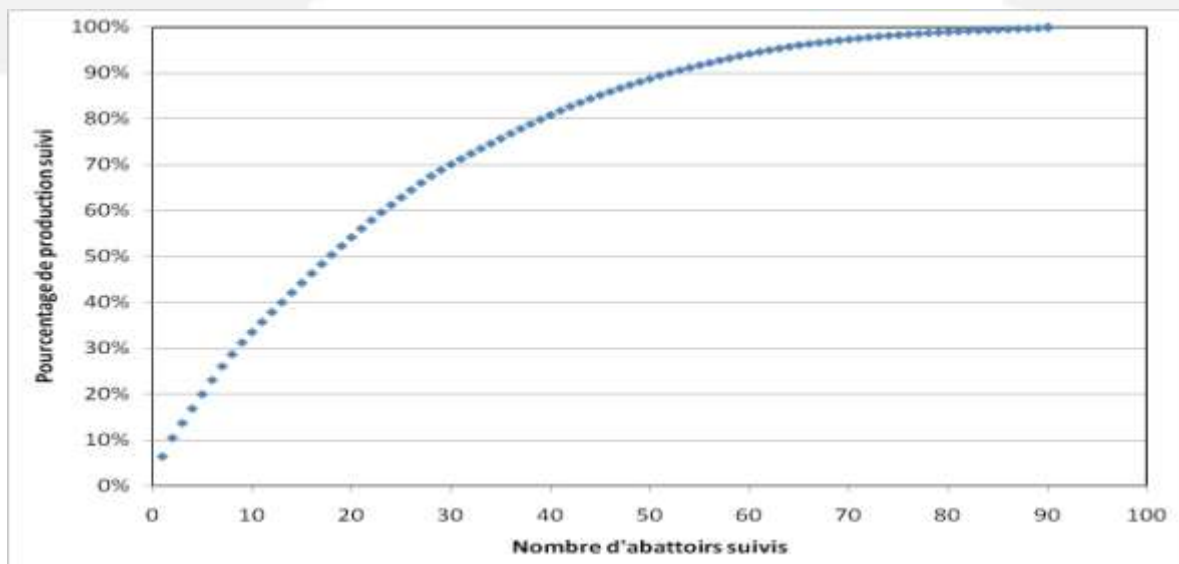


Figure 6. Pourcentage de production suivie en fonction de l'effort d'échantillonnage

5-3.4 Tirage au sort des dates de prélèvements

La DGAI a posé des contraintes temporelles. Les prélèvements ne pourront démarrer avant la 18 janvier 2010 (semaine 3) et devront être effectués au plus tard le 10 décembre 2010 (semaine 49). Un

tirage au sort aléatoire des dates de prélèvement a été effectué. Aucune précision n'est donnée sur le jour de la semaine, il est toutefois à noter que les prélèvements sont à répartir sur différents jours de la semaine tout en restant compatibles avec la réalisation des analyses microbiologiques.

5-3.5 Fiabilité des autocontrôles

Deux méthodes peuvent être utilisées pour vérifier la fiabilité des résultats des autocontrôles. La première consiste à relever lors du prélèvement, les résultats d'autocontrôle précédant directement le prélèvement du plan de surveillance (cf. 5-3-2).

La seconde repose sur la participation des établissements. Lors du prélèvement le nombre de peaux de cou peut être doublé par le préleveur (30 peaux de cou). Cinq échantillons de trois peaux de cou seront envoyés au laboratoire accrédité réalisant les analyses du plan de surveillance, les cinq autres échantillons seront confiés à l'entreprise. L'entreprise devra réaliser sur ceux-ci les analyses qu'elles effectuent usuellement dans le cadre de ses autocontrôles puis transmettre les résultats aux autorités compétentes.

Il est noté que ces méthodes donneront simplement une indication à la DGAI et ne constituent en aucun cas (si les résultats sont comparables) pour les industriels une accréditation de leur laboratoire.

6- Recommandations-conclusions

Les résultats du plan de surveillance permettront de statuer sur l'intérêt de poursuivre la recherche de *Salmonella*.

Pour la détermination d'un nouvel indicateur de contamination d'origine fécale, l'Afssa recommande donc d'effectuer pour ce plan de surveillance le dénombrement simultané des *E. coli*, des *Enterobacteriaceae* et des *Campylobacter* thermotolérants. Les résultats permettront de déterminer l'indicateur le mieux adapté au suivi de cette contamination.

En outre, dans la mesure où ce qui intéresse l'autorité compétente est l'hygiène du procédé dans son ensemble, et pas seulement la surveillance de la contamination d'origine fécale, il serait souhaitable de disposer de plusieurs indicateurs comme c'est le cas pour l'abattage d'autres animaux. En effet, se limiter à un seul indicateur peut conduire à accepter des pratiques d'hygiène insuffisantes. De ce fait, il est également recommandé pour ce plan de surveillance de dénombrer la flore aérobie mésophile et les *Pseudomonas*.

Les résultats du plan de surveillance sur ces flores microbiennes mis au regard des informations relevées dans les commémoratifs (cadence, appréciations du vétérinaire officiel, etc.) permettront d'établir s'il est pertinent de suivre un ou plusieurs indicateurs d'hygiène du procédé d'abattage et de déterminer les seuils indiquant l'acceptabilité.

Il est important de veiller à ce que les commémoratifs associés aux prélèvements soient bien renseignés (cf. 5-3.2). L'Afssa se tient à disposition de la DGAI pour le traitement statistique des résultats.

Le Directeur général

Marc MORTUREUX

7- Références bibliographiques

1. **Afssa.** 2004. Appréciation des risques alimentaires liés aux campylobacters - Application au couple poulet / *Campylobacter jejuni*. <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Ra-campylobacter.pdf>.
2. **Afssa.** 2008. Recommandations pour l'élaboration de critère microbiologiques d'hygiène des procédés - <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Ra-CriteresMic.pdf>.
3. **Allen, V. M., J. E. L. Corry, C. H. Burton, R. T. Whyte, and G. C. Mead.** 2000. Hygiene aspects of modern poultry chilling. *International Journal of Food Microbiology* **58**:39-48.
4. **Allen, V. M., M. H. Hinton, D. B. Tinker, C. Gibson, G. C. Mead, and C. M. Wathes.** 2003. Microbial cross-contamination by airborne dispersion and contagion during defeathering of poultry. *British Poultry Science* **44**:567-576.
5. **Allen, V. M., D. B. Tinker, M. H. Hinton, and C. M. Wathes.** 2003. Dispersal of micro-organisms in commercial defeathering systems. *British Poultry Science* **44**:53-59.
6. **Altekruse, S. F., M. E. Berrang, H. Marks, B. Patel, W. K. Shaw Jr, P. Saini, P. A. Bennett, and J. S. Bailey.** 2009. Enumeration of *Escherichia coli* cells on chicken carcasses as a potential measure of microbial process control in a random selection of slaughter establishments in the United States. *Applied and Environmental Microbiology* **75**:3522-3527.
7. **Bohaychuk, V. M., S. L. Checkley, G. E. Gensler, and P. R. Barrios.** 2009. Microbiological baseline study of poultry slaughtered in provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. *Canadian Veterinary Journal* **50**:173-178.
8. **Burfoot, D., R. T. Whyte, D. B. Tinker, K. Hall, and V. M. Allen.** 2007. A novel method for assessing the role of air in the microbiological contamination of poultry carcasses. *International Journal of Food Microbiology* **115**:48-52.
9. **Carraminana, J. J., J. Yangüela, D. Blanco, C. Rota, A. I. Agustin, A. Arino, and A. Herrera.** 1997. *Salmonella* incidence and distribution of serotypes throughout processing in a Spanish poultry slaughterhouse. *Journal of Food Protection* **60**:1312-1317.
10. **Cason, J. A., and A. Hinton Jr.** 2006. Coliforms, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, and *Salmonella* in a counterflow poultry scalding tank with a dip tank. *International Journal of Poultry Science* **5**:846-849.
11. **Cason, J. A., A. Hinton Jr, J. K. Northcutt, R. J. Buhr, K. D. Ingram, D. P. Smith, and N. A. Cox.** 2007. Partitioning of external and internal bacteria carried by broiler chickens before processing. *Journal of Food Protection* **70**:2056-2062.
12. **CBIP vétérinaire.** 2002. Divers problème bactériens rencontrés chez les animaux domestiques - <http://www.cbip-vet.be/fr/frinfos/frfolia/02FVF1a.pdf>. *Folia veterinaria*.
13. **Corry, J. E. L., V. M. Allen, W. R. Hudson, M. F. Breslin, and R. H. Davies.** 2002. Sources of salmonella on broiler carcasses during transportation and processing: Modes of contamination and methods of control. *Journal of Applied Microbiology* **92**:424-432.
14. **Dohoo, I., W. Martin, and H. Stryhn.** 2003. Sampling, p. 27-52, *Veterinary Epidemiologic Research*. 1st Ed. AVC Inc, Charlottetown, Canada.
15. **Efsa.** 2008. Report of Task Force on Zoonoses Data Collection on proposed technical specifications for a coordinated monitoring programme for *Salmonella* and *Campylobacter* in broiler meats at retail in the EU *The EFSA Journal* **15**:1-49.
16. **Fédération des industries avicoles.** 2008. Guide des bonnes pratiques d'hygiène et d'application des principes HACCP relatif à l'abattage et la découpe des volailles maigres
17. **Ghafir, Y., B. China, K. Dierick, L. De Zutter, and G. Daube.** 2008. Hygiene indicator microorganisms for selected pathogens on beef, pork, and poultry meats in Belgium. *Journal of Food Protection* **71**:35-45.
18. **Habib, I., I. Sampers, M. Uyttendaele, D. Berkvens, and L. De Zutter.** 2008. Baseline data from a Belgium-wide survey of *Campylobacter* species contamination in chicken meat preparations and considerations for a reliable monitoring program. *Applied and Environmental Microbiology* **74**:5483-5489.
19. **Hannah, J. F., D. L. Fletcher, N. A. Cox, D. P. Smith, J. A. Cason, J. K. Northcutt, L. J. Richardson, and R. J. Buhr.** 2008. Effect of sand and shaking duration on the recovery of aerobic bacteria, coliforms, and *Escherichia coli* from prechill broiler whole carcass rinsates. *Journal of Applied Poultry Research* **17**:272-277.
20. **Huneau-Salaün, A., M. Denis, L. Balaine, and G. Salvat.** 2007. Risk factors for *Campylobacter* spp. colonization in French free-range broiler-chicken flocks at the end of the indoor rearing period. *Preventive Veterinary Medicine* **80**:34-48.
21. **Hutchison, M. L., L. D. Walters, G. C. Mead, M. Howell, and V. M. Allen.** 2006. An assessment of sampling methods and microbiological hygiene indicators for process verification in poultry slaughterhouses. *Journal of Food Protection* **69**:145-153.
22. **Johnsen, G., H. Kruse, and M. Hofshagen.** 2006. Genotyping of *Campylobacter jejuni* from broiler carcasses and slaughterhouse environment by amplified fragment length polymorphism. *Poultry Science* **85**:2278-2284.
23. **Lindblad, M., H. Lindmark, S. T. Lambertz, and R. Lindqvist.** 2006. Microbiological baseline study of broiler chickens at Swedish slaughterhouses. *Journal of Food Protection* **69**:2875-2882.
24. **Lindmark, H., C. Diedrich, L. Andersson, R. Lindqvist, and E. O. Engvall.** 2006. Distribution of *Campylobacter* genotypes on broilers during slaughter. *Journal of Food Protection* **69**:2902-2907.

25. **Mead, G. C., and M. J. Scott.** 1994. Coagulase-negative staphylococci and coliform bacteria associated with mechanical defeathering of poultry carcasses. *Letters in Applied Microbiology* **18**:62-64.
26. **Rasschaert, G., K. Houf, and L. De Zutter.** 2007. Impact of the slaughter line contamination on the presence of Salmonella on broiler carcasses. *Journal of Applied Microbiology* **103**:333-341.
27. **Rasschaert, G., K. Houf, C. Godard, C. Wildemauwe, M. Pastuszcak-Frak, and L. De Zutter.** 2008. Contamination of carcasses with Salmonella during poultry slaughter. *Journal of Food Protection* **71**:146-152.
28. **Smith, D. P., J. K. Northcutt, J. A. Cason, A. Hinton Jr, R. J. Buhr, and K. D. Ingram.** 2007. Effect of external or internal fecal contamination on numbers of bacteria on prechilled broiler carcasses. *Poultry Science* **86**:1241-1244.
29. **Teagasc.** 2008. Standard operating procedure for microbial examination of poultry, Ref: SOP 4 Issue: 01 Ashtown Food Research Centre
30. **Trachoo, N., J. F. Frank, and N. J. Stern.** 2002. Survival of *Campylobacter jejuni* in biofilms isolated from chicken houses. *Journal of Food Protection* **65**:1110-1116.
31. **Van Asselt, E. D., W. F. Jacobs-Reitsma, R. Van Brakel, H. Van Der Voet, and H. J. Van Der Fels-Klerx.** 2008. *Campylobacter* prevalence in the broiler supply chain in the Netherlands. *Poultry Science* **87**:2166-2172.
32. **Van Der Fels-Klerx, H. J., W. F. Jacobs-Reitsma, R. Van Brakel, H. Van Der Voet, and E. D. Van Asselt.** 2008. Prevalence of Salmonella in the broiler supply chain in the Netherlands. *Journal of Food Protection* **71**:1974-1980.
33. **Van Immerseel, F., J. De Buck, F. Pasmans, G. Huyghebaert, F. Haesebrouck, and R. Ducatelle.** 2004. *Clostridium perfringens* in poultry: An emerging threat for animal and public health. *Avian Pathology* **33**:537-549.

8- Mots-clefs

Critères d'hygiène des procédés ; abattoirs ; viandes ; volailles ; carcasses ; plan de surveillance

a. Influence de la prévalence de *Salmonella* sur les carcasses individuelles en fin de chaîne sur la probabilité de dépasser le critère du règlement (CE) n°2073/2005.

La prévalence sur des échantillons composés de trois peaux de cou (p_3) est fonction de la prévalence individuelle sur les carcasses en fin de chaîne d'abattage (p_2).

$$p_3 = 1 - (1 - p_2)^3$$

Le nombre d'échantillon positif parmi 50 (c), suit une loi Binomiale B(50, p_3).

La probabilité que c soit supérieur à 7 est calculé de la façon suivante

$$prob(c > 7) = 1 - \sum_{i=0}^7 \binom{50}{i} p_3^{50-i} (1 - p_3)^i$$

Le résultat est présenté dans la Figure 1 (cf. ci-dessus).

b. Prévalence sur des échantillons composés de 3 peaux de cou en fonction de la prévalence sur les peaux ce cou individuelles.

Par simulation, le lien entre prévalence individuelle sur les carcasses en fin de chaîne d'abattage (p_2) et celle observée sur des échantillons composés de trois peaux de cou (p_3) a été explorée compte-tenu du nombre d'échantillons à prélever (N=500).

Pour différentes valeurs de p_2 , les valeurs de p_3 ont été calculées selon l'équation ci-dessus. 1000 valeurs de c ont été tirées dans une loi Binomiale B(500, p_3) et 1000 valeurs de p_3 ont été calculées de la façon suivante : $p_3' = \frac{c}{500}$.

Parmi les 1000 valeurs de p_3 . Les 2,5^{ème}, 50^{ème} et 97,5^{ème} percentiles ont été relevés. La représentation graphique de ces percentiles en fonction de p_2 est donnée dans la Figure 3.

c. Impact du nombre d'échantillons (N) sur la distribution cumulative des dénombrements du nouvel indicateur

Pour illustrer l'impact du nombre d'échantillon sur l'estimation des percentiles, une distribution a été choisie : le logarithme décimale des dénombrements suit une loi Normale de moyenne 3,5 \log_{10} (ufc/g) et d'écart type de 1 \log_{10} (ufc/g).

Par simulation, l'impact de trois tailles d'échantillons (N= 100, 500 et 2000) sur l'estimation des 75^{ème} et 95^{ème} percentiles a été mesuré.

Pour chacune des valeurs de N :

1. 1000 jeux de données de tailles N ont été tiré au sort (la Figure 4a présente le résultat de 100 jeux de données)
2. 1000 valeurs des 75^{ème} et 95^{ème} percentiles ont été observées (la Figure 4b présente la répartition de ces deux percentiles).