



**COMITE SCIENTIFIQUE DE
L'AGENCE FEDERALE POUR LA SECURITE
DE LA CHAINE ALIMENTAIRE**

AVIS 27-2008

Objet : Evaluation d'un plan d'échantillonnage pour détecter l'éventuelle contamination de la viande de la tête des bovins par du tissu du système nerveux central et évaluation de mesures correctives éventuelles (dossier Sci Com 2008/13).

Avis validé par le Comité scientifique le 10 octobre 2008.

Résumé

Il est demandé au Comité scientifique d'évaluer un plan d'échantillonnage fondé sur un test de laboratoire pour la détection d'une contamination par du tissu du système nerveux central (SNC) sur la viande de la tête des bovins dans (i) les abattoirs pratiquant la découpe de la viande de la tête des bovins, (ii) les abattoirs pratiquant la canalisation et (iii) les ateliers de découpe agréés pour la découpe de la viande de la tête. Il est également demandé au Comité scientifique d'évaluer des mesures correctives concernant les procédés d'abattage à appliquer éventuellement dans les abattoirs possédant une prévalence élevée de contamination de la viande de tête par du tissu du SNC.

Le Comité scientifique estime que, vu la probable trop faible spécificité du test ELISA Ridascreen actuellement utilisé en Belgique et l'absence de connaissance de la prévalence actuelle de contamination de la viande des têtes par du tissu du SNC dans les abattoirs en Belgique, l'application d'un plan d'échantillonnage n'apportera pas d'informations pertinentes sur le niveau de qualité des procédés d'abattage dans les différents abattoirs.

Par contre, le Comité scientifique recommande la mise en place d'un dépistage (screening) dans tous les abattoirs belges pour estimer une prévalence globale de contamination par du tissu du SNC, associé à une enquête individuelle sur les procédés d'abattage et leurs points critiques à l'aide d'une check liste exhaustive. Sur base de ces données obtenues, des corrélations entre prévalence de contamination de viande de tête avec du tissu du SNC en Belgique et présence de points critiques pourront être établies dans ces abattoirs, et des hypothèses concernant des facteurs de risque pourront être formulées. Dans un second temps, lorsque le niveau de prévalence sera estimé individuellement pour chaque abattoir sur base des facteurs de risque présents, un plan d'échantillonnage adapté pourra être réalisé afin d'éventuellement émettre des mesures correctives.

Une liste étendue de points critiques pour la contamination des têtes et des carcasses par du tissu du SNC dans les abattoirs, associée à des recommandations visant à diminuer le risque de contamination (mesures correctives), a été élaborée.

Summary

Advice 27-2008 of the Scientific Committee of the FASFC on the evaluation of a sampling plan to detect possible contamination of head meat with central nervous system tissue and evaluation of possible corrective measures

The Scientific Committee is asked to evaluate a sampling plan, based on a laboratory test, to detect central nervous system (CNS) tissue contamination on head meat of bovine animals (i) at slaughterhouses harvesting bovine head meat, (ii) at slaughterhouses applying canalization, and (iii) in cutting plants authorized to harvest head meat. The Scientific Committee is also asked to evaluate corrective measures in regard to slaughtering processes, to be eventually applied in slaughterhouses with high prevalence of CNS contamination of head meat.

Considering the probably too low specificity of the ELISA Ridascreen test currently applied in Belgium, and considering the absence of knowledge about the current prevalence of contamination of head meat by CNS tissue in Belgian slaughterhouses, the Scientific Committee is of opinion that the application of a sampling plan will provide no pertinent information about the quality of slaughtering processes in the different slaughterhouses.

On the other hand, the Scientific Committee recommends to execute in all Belgian slaughterhouses a screening to estimate the global prevalence of CNS tissue contamination in combination with an individual survey of the slaughtering processes and their critical points with an exhaustive checklist. On basis of these obtained data, correlations between prevalence of CNS tissue contamination of head meat and presence of critical points can be established in the slaughterhouses and risk factors can be determined. In a second time, after having determined the prevalence level in each individual slaughterhouse based on present risk factors, a sampling plan can be developed to eventually propose corrective measures.

An extended list of critical points for contamination of heads and carcasses by CNS tissue in slaughterhouses and recommendations to decrease the risk of contamination (corrective measures) are proposed.

Mots clés

ESB – système nerveux central (SNC) – abattoir – échantillonnage – viande de la tête – atelier de découpe – MRS

1. Termes de référence

Selon l'annexe V du Règlement (CE) N° 999/2001, les tissus du SNC (dont l'encéphale et la moelle épinière) des bovins âgés de plus de 12 mois sont considérés comme des matériels à risque spécifiés (MRS) susceptibles de contenir l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB). Pour cette raison, il y a lieu d'éviter la contamination de la viande de la tête des bovins par des tissus du SNC lors des procédés d'abattage et de découpe de la viande.

Le point 8 de l'annexe V du Règlement (CE) N° 999/2001 prévoit que la viande de la tête des bovins âgés de plus de 12 mois peut seulement être récoltée dans les abattoirs disposant d'un système de contrôle validé par l'autorité compétente. Ce système doit intégrer la mise en place d'un plan d'échantillonnage fondé sur un test en laboratoire et validé permettant de détecter les tissus du SNC.

Le point 9 de l'annexe V du Règlement (CE) N° 999/2001 prévoit également la mise en place d'un plan d'échantillonnage dans les ateliers de découpe ainsi qu'un plan d'échantillonnage pour les abattoirs qui envoient des têtes vers des ateliers de découpe pour la récolte de la viande (« canalisation »).

Les agents de l'AFSCA doivent juger si les plans d'échantillonnage présentés par les abattoirs et les ateliers de découpe sont satisfaisants pour maîtriser le risque de contamination de surface de la viande de tête des bovins par du tissu du SNC. La Direction Générale Politique de Contrôle a proposé un plan d'échantillonnage destiné aux abattoirs.

2. Questions posées

Il est demandé au Comité scientifique d'évaluer le plan d'échantillonnage pour détecter la présence de tissu du SNC proposé par la DG Politique de Contrôle¹ (1) pour les abattoirs où la viande de tête de bovins âgés de plus de 12 mois est récoltée, (2) pour les ateliers de découpe où la viande de tête de bovins âgés de plus de 12 mois est récoltée ainsi que (3) pour les abattoirs d'où les têtes de bovins âgés de plus de 12 mois sont envoyées ('canalisation') vers des ateliers de découpe agréés afin d'y récolter la viande de tête, comme exigé par le Règlement (CE) N° 999/2001, annexe V, points 8.1., f, 9. f et 9. d, respectivement.

¹ Le plan d'échantillonnage proposé par la DG Politique de Contrôle est le suivant :

Dosage de GFAP sur 5 têtes de bovins de plus de 12 mois par échantillonnage aléatoire (durant une même journée d'abattage) minimum une fois par semaine pendant 10 semaines consécutives (total de 50 échantillons par 10 semaines, ce qui fait 3050 échantillons pour l'ensemble des abattoirs par cycle de 10 semaines), ceci de manière continue au cours du temps. La fréquence peut être adaptée pour les petits abattoirs. La fréquence peut être diminuée jusqu'à une fois toutes les deux semaines si les résultats sont satisfaisants pendant 30 semaines consécutives.

La proposition de procédure d'échantillonnage par la DG Politique de Contrôle est la suivante :

Les masséters sont échantillonnés bilatéralement à l'aide d'un seul disque de coton démaquillant sur une surface de 100 cm² de chaque côté (méthode non destructive).

La valeur limite de prévalence à partir de laquelle un abattoir doit subir des mesures correctives proposée par la DG Politique de Contrôle est la suivante:

- soit 1 résultat positif (présence de GFAP) sur 50 échantillons (2%) avec une valeur > ou = au standard 0,4% (ce qui représente, selon l'article de Troeger et al., 2004, un degré de contamination élevé)
- soit plus d'1 résultat positif sur 50 échantillons (> 2%) quelle que soit la valeur observée (> ou < au standard 0,4%)

Il est également demandé au Comité scientifique d'évaluer des propositions de mesures correctives (Troeger *et al.*, 2004, Ramantanis *et al.*, 2006) à prendre en cas de mauvais résultats suite à l'application du plan d'échantillonnage.

Considérant les discussions menées lors des réunions de groupe de travail des 6 mai et 23 juin 2008 et la séance plénière du 10 octobre 2008 ;

le Comité scientifique émet l'avis suivant :

3. Avis

3.1. Introduction

3.1.1. Avis 10-2007 du 11 mai 2007 du Comité scientifique.

Dans l'avis 10-2007, le Comité scientifique a estimé que le risque pour la sécurité alimentaire de la contamination de la viande de la tête par du tissu du SNC chez les bovins (contexte ESB) est très faible vu la faible incidence actuelle de l'ESB en Belgique et en Europe. Le risque pour le consommateur a été qualifié de ponctuel car trois conditions doivent être réunies : (1) ingestion de viande provenant d'un bovin infecté par l'ESB, (2) bovin infecté non détecté par les tests rapides et (3) viande contaminée par du tissu du SNC. Le Comité scientifique a estimé que le point 7 de l'annexe XI du Règlement (CE) N° 999/2001 devait être maintenu vu que le retrait des MRS représente la mesure la plus importante de protection de la santé publique. Il a également proposé que le problème de la contamination de la viande de la tête des bovins par du tissu du SNC soit abordé, entre autre, comme un moyen d'évaluer l'hygiène des procédés d'abattage (bonnes pratiques d'abattage) dans les abattoirs.

Le Comité scientifique attirait également l'attention sur la problématique de la contamination des carcasses par des tissus du SNC lors de la fente de la colonne vertébrale à la scie (Helps *et al.*, 2002 ; Schmidt *et al.*, 1999 ; Pendergast *et al.*, 2003 ; Anil *et al.*, 1999, Lücker *et al.*, 2002) même en cas d'aspiration préalable de la moelle épinière (Schwägele *et al.*, 2002).

3.1.2. Considérations préliminaires.

- Selon le Règlement (CE) N° 999/2001, les matériels à risque spécifiés (MRS), constitués des amygdales, des intestins et du mésentère des bovins de tout âge, du crâne (y compris l'encéphale et les yeux) et de la moelle épinière des bovins de plus de 12 mois, et de la colonne vertébrale des bovins de plus de 30 mois, ne peuvent pas entrer dans la chaîne alimentaire et doivent être détruits.
- Le but de la mise en place du plan d'échantillonnage par l'Agence n'est pas de détruire les têtes en cas de résultat positif mais d'évaluer les pratiques d'abattage dans les abattoirs et les bonnes pratiques de découpe dans les ateliers de découpe afin d'envisager d'éventuelles mesures correctives en fonction des résultats. Le but poursuivi est donc une amélioration des procédés d'abattage.

- Selon le Règlement (CE) N° 999/2001, le plan d'échantillonnage doit obligatoirement être fondé sur un test de laboratoire permettant la détection de tissu du SNC.

3.1.3. Méthodes de détection du tissu du SNC.

Plusieurs méthodes de détection de tissu du SNC sont décrites dans la littérature. La Commission européenne laisse aux Etats Membres le choix de la méthode tant que celui-ci est scientifiquement argumenté. La méthode ne doit donc pas nécessairement être validée officiellement. La méthode idéale devrait être applicable en routine pour le but poursuivi (échantillonnage par swabs à la surface de la viande de tête), et avoir une sensibilité et une spécificité diagnostiques maximales.

Les méthodes existantes sont les suivantes:

- Le test ELISA colorimétrique type sandwich (RIDASCREEN) pour la détection de « Glial Fibrillary Acidic Protein » (GFAP) (Schmidt *et al.*, 1999, 2001, 2002 ; Agazzi *et al.*, 2002, 2004 ; Hossner *et al.*, 2006 ; Bozetta *et al.*, 2006) est le seul test actuellement mis au point, validé scientifiquement (Bülte *et al.*, 2001), commercialisé et utilisé en Belgique. Il est applicable en routine, s'applique bien à un échantillonnage par swabs sur de la viande crue ou dans des échantillons de viande et est quantitatif. Il est précis, sa sensibilité est de 97,9% (IC 95% : 0,89 – 1) à une valeur cut-off de 0,049%, mais à cette même valeur cut-off, sa spécificité n'est que de 97,4% (IC 95% : 0,89 – 1) (Bozetta *et al.*, 2006). Ce problème de spécificité est dû à la présence de tissu du système nerveux périphérique (par exemple, présence de nerfs)(Schmidt *et al.*, 1999). Le chiffre de 97,4% avancé par Bozetta (2006) concerne la spécificité du test dans des échantillons de viande homogénéisés (présence de nerfs possible) et non des échantillons obtenus par frottis à la surface de masséters (non susceptibles de contenir des nerfs). Bien qu'il n'existe pas de données disponibles dans la littérature pour quantifier la spécificité de ce test avec des échantillons obtenus par frottis, ce qui est le but recherché dans le cadre de cet avis dont l'objet est de déterminer une contamination en surface, on peut supposer, sans la connaître, que cette spécificité sera plus haute. Un tel test de spécificité de 97,4% donnera automatiquement 2,6% de résultats faux positifs. Il est cependant possible d'augmenter la spécificité d'un test en augmentant la valeur du cut-off, mais aux dépens de la sensibilité.
- Le test ELISA fluorescent pour la détection de GFAP (Hossner *et al.*, 2006) est plus sensible et plus spécifique (pas de faux positifs, sans pour autant que des chiffres ne soient donnés dans l'étude) que le test colorimétrique. Hossner (2006) a comparé les deux tests : l'ELISA fluorescent est capable de détecter la présence de 0,05% de tissu du cerveau ou de moelle épinière dans de la viande, alors que l'ELISA colorimétrique ne détecte que 0,3% à 0,2% de tissu de moelle épinière, ne détecte pas de contamination par du tissu de cerveau, et présente des résultats variables lorsque l'échantillon est prélevé à l'aide d'un swab. Cependant, ces résultats sont contradictoires avec les résultats d'autres études (Hajmeer *et al.*, 2003). L'EFSA (EFSA-Q-2003-122) recommande la vérification périodique des résultats du test RIDASCREEN commercial avec le test fluorescent (Schmidt *et al.*, 2002). Des anticorps sont disponibles commercialement en Belgique mais une implémentation de ce test n'est pas encore effective dans les laboratoires belges.

- Le test Real time PCR pour la détection d'ARNm de la GFAP (Schönenbrücher *et al.*, 2007) est applicable en routine, s'applique à un échantillonnage par swabs sur de la viande de tête ou dans des échantillons de viande et est quantitatif. Ce test présente une sensibilité diagnostique de 100% et une très bonne spécificité (sans pour autant que des chiffres ne soient donnés dans l'étude de Schönenbrücher). Cependant, ce test n'est pas non plus implémenté en Belgique actuellement. De plus, pour détecter une contamination, l'idéal est de détecter des protéines (par exemple, GFAP) et non des acides nucléiques (la stabilité de l'ARNm est faible, ce qui augmente le risque de résultats faux-négatifs). Finalement, cette méthode nécessite un équipement de laboratoire spécifique.
- Plusieurs autres méthodes existent mais ne sont pas applicables en routine ou ne présentent pas les caractéristiques minimales pour être applicables pour le but poursuivi (RT-PCR sur GFAP + RFLP (Seyboldt *et al.*, 2003) ; immunohistochimie sur GFAP ou sur « neuronal specific enolase » (NSE) (Lücker *et al.*, 1999, 2000 ; Wensch *et al.*, 1999) ; GS/MS (Biedermann *et al.*, 2004, Lücker *et al.*, 2004) ; histologie et immunocytochimie (Love *et al.*, 2000) ; spectrophotométrie enzymatique sur cholestérol (Lücker *et al.*, 1998, 1999), ELISA pour la détection de syntaxine 1-β (Love *et al.*, 2000), et détection directe de la présence de protéine prion dans la viande (Lücker *et al.*, 2002).

3.1.4. Prévalence actuelle de tissu du SNC sur les têtes de bovins dans les abattoirs et les ateliers de découpe

Afin de déterminer la taille d'un échantillon pour la détermination de la présence de tissu du SNC sur la viande de la tête de bovins, il est nécessaire de connaître la prévalence attendue de tissu du SNC (par exemple, GFAP) sur la viande de tête dans les abattoirs en Belgique. Cette prévalence n'est pas connue étant donné qu'aucun dépistage n'a jamais été réalisé dans des abattoirs belges.

Une étude exploratoire, réalisée en 2005 et 2006 à l'ULg avec la méthode RIDASCREEN sur base d'échantillons provenant de deux abattoirs belges, a révélé une prévalence de GFAP sur des masséters de bovins de 1,97% (5 échantillons positifs sur 254 analyses, intervalle de confiance à 95% : 0,64 – 4,53). Cependant, cette étude est biaisée étant donné qu'elle a été réalisée sur base d'un nombre restreint (deux) d'abattoirs volontaires. Moje (2002) a mis en évidence avec la méthode RIDASCREEN une prévalence de GFAP de 26% sur des masséters, de 72% au niveau du *foramen magnum* et de 95% au niveau du trou frontal dans des abattoirs (Allemagne) après étourdissement avec pistolet à tige captive. Aucune autre étude n'est disponible concernant la prévalence de contamination des têtes. Par contre, plusieurs études montrent une prévalence élevée de contamination des carcasses par du tissu du SNC après la fente de la colonne vertébrale (Troeger *et al.*, 2004, Schwagele *et al.*, 2002).

Aucune étude de prévalence de tissu du SNC au niveau de la viande de tête dans les ateliers de découpe n'est disponible.

3.1.5. Nombre d'abattoirs et ateliers de découpe agréés pour la découpe de viande de tête en Belgique, et capacités.

Pour déterminer la taille d'un échantillon, il faut connaître la taille de la population à partir de laquelle l'échantillonnage doit se faire. Un schéma récapitulatif des circuits

autorisés pour la récolte de la viande de la tête des bovins âgés de plus de 12 mois en Belgique est repris à **l'annexe 1**.

Dans le cas des abattoirs, il s'agit du nombre de têtes de bovins de plus de 12 mois, c'est à dire du nombre de bovins de plus de 12 mois abattus par an en Belgique. En principe, les bovins dont la tête est directement envoyée par l'abattoir² vers une usine de destruction et par conséquent dont la viande de tête n'est pas récoltée, ne devraient pas être pris en considération. Cependant, comme l'objectif est d'évaluer les procédures d'abattage, et comme de tels abattoirs sont susceptibles de demander un agrément dans le futur, il en a été tenu compte, dans le cadre de cet avis, pour la détermination de la taille de l'échantillon.

La taille de cet échantillon doit donc être répartie entre les abattoirs agréés pour la découpe de viande de tête (il n'y en a aucun actuellement en Belgique), les abattoirs qui pratiquent la canalisation et les abattoirs qui envoient les têtes à une usine de destruction, c'est à dire sur l'ensemble des abattoirs belges, en fonction de leurs capacités respectives.

Les capacités des différents abattoirs belges sont détaillées à **l'annexe 2a, colonnes A et B**.

Dans le cas des ateliers de découpe agréés pour la récolte de la viande de la tête qui reçoivent des têtes des abattoirs qui pratiquent la canalisation, la population est égale au nombre de têtes de bovins de plus de 12 mois dont la viande est récoltée par an en Belgique. La taille de l'échantillon doit également être répartie parmi les différents ateliers de découpe en fonction de leurs capacités. Les capacités des différents ateliers de découpe belges sont détaillées à **l'annexe 2b, colonnes A et B**.

3.2. Réponse aux questions

3.2.1. Question 1 : Evaluation du plan d'échantillonnage

3.2.1.1. Recommandations relatives aux tests de détection à utiliser

Le test RIDASCREEN est le seul test implémenté en Belgique actuellement pour la détermination de la présence de tissu du SNC à la surface de la viande de la tête des bovins. Malgré l'absence de connaissance de sa spécificité lors d'un échantillonnage par frottis et sa relative faible spécificité sur échantillon de viande homogénéisée, le Comité scientifique recommande son utilisation pour la réalisation du dépistage préalable au plan d'échantillonnage (voir point 3.2.1.2.).

Selon le Comité scientifique, la détermination de la présence de tissu du SNC avec des tests de diagnostic devrait être réalisée, pour la phase de démarrage (dépistage), par un laboratoire de référence afin d'assurer l'homogénéité des résultats. Il recommande que ce laboratoire de référence mette au point le test RIDASCREEN en déterminant une valeur cut-off de manière à obtenir une sensibilité et une spécificité optimales.

Pour la seconde phase (réalisation du plan d'échantillonnage individuel, voir point 3.2.1.2.), le Comité scientifique recommande la mise au point et l'utilisation d'un test

² Parmi les 9 ateliers de découpe agréés, 4 pratiquent la récolte de la viande de tête provenant de 29 abattoirs parmi les 61 abattoirs totaux. Comme aucun abattoir ne pratique lui-même la découpe de viande de tête, ceci signifie que 32 abattoirs envoient des têtes vers des usines de destruction.

plus spécifique et tout aussi sensible. Le test ELISA en fluorescence pourrait être un bon candidat mais cette possibilité nécessite une étude plus approfondie et des données plus précises de sensibilité et de spécificité pour l'application recherchée (voir introduction).

3.2.1.2. Evaluation du plan d'échantillonnage (taille et fréquence de l'échantillon, procédure pour la prise d'échantillon)

Comme expliqué dans l'introduction, la prévalence de la contamination des têtes de bovins par du tissu du SNC dans les différents abattoirs et ateliers de découpe en Belgique n'est pas connue. Or, la connaissance de celle-ci est nécessaire afin de déterminer une taille d'échantillon spécifique pour chaque abattoir.

De plus, le test Ridascreen, qui est le seul test implémenté en Belgique actuellement pour cette application, présente, pour ce que l'on en connaît, une trop faible spécificité pour pouvoir faire une différence entre les qualités de procédés d'abattage (prévalence réelle) dans les différents abattoirs³. Or, une différence doit pouvoir être faite afin d'éventuellement pouvoir proposer des mesures correctives.

Pour ces deux raisons, le Comité scientifique estime que, dans l'état actuel des choses, la réalisation d'un plan d'échantillonnage spécifique pour chaque abattoir est impossible et n'apporterait pas d'information pertinente sur la qualité des procédés d'abattage dans les différents abattoirs.

Par contre, le Comité scientifique recommande la réalisation d'un dépistage (screening) afin d'avoir une estimation d'un niveau de prévalence global de GFAP à la surface de la viande de tête dans les abattoirs belges.

Comme les résultats du dépistage ne permettront pas de déterminer une prévalence individuelle propre à chaque abattoir (à cause de la faible spécificité des tests, voir remarque plus haut), celui-ci devrait être couplé à une enquête individuelle sur les

³ En effet, pour une prévalence attendue de 2% (voir étude menée à l'ULg), une précision de 0,5% et une taille de population de 493 434 têtes, la taille de l'échantillon nécessaire pour évaluer la prévalence réelle est d'environ 3000 (simulation WinEpiscope pour déterminer la prévalence réelle avec un test de sensibilité et de spécificité diagnostiques de 100%). Si l'on répartit ces 3000 échantillons sur les 61 abattoirs belges, cela fait en moyenne 50 échantillons par abattoir (plus pour les grands et moins pour les petits abattoirs). Avec un test de spécificité de 97,4% (supposition) et une prévalence attendue de 2% (supposition), il y aura, sur 50 échantillons, 1,3 (soit 2) résultats faux positifs et 1 résultat vrai positif (prévalence apparente de 6%). Comme il est impossible de faire la différence entre les vrais et les faux positifs, il sera impossible de déterminer la prévalence réelle et la qualité des procédés d'abattage dans les abattoirs.

On pourrait imaginer de corriger les prévalences apparentes obtenues pour la spécificité et la sensibilité du test, mais cela ne sera interprétable avec une certitude suffisante que pour les abattoirs avec de hautes prévalences apparentes (avec la formule de Rogan-Gladen, pour une prévalence apparente faible, par exemple de 3%, une sensibilité de 97,9% et une spécificité de 97,4%, on obtient une prévalence réelle estimée de 0,42%, mais il faut encore tenir compte de l'incertitude). Un test de faible spécificité ne peut donc être appliqué que dans les abattoirs avec une grande prévalence, ce que l'on ne connaît pas *a priori*.

On pourrait également imaginer d'augmenter la spécificité du test Ridascreen en modifiant la valeur cut-off, mais ceci aurait comme corollaire une diminution de la sensibilité de ce test. Une étude est recommandée.

On pourrait également imaginer de confirmer les échantillons positifs obtenus grâce à la méthode Ridascreen avec une méthode histologique de référence pour déterminer les vrais positifs. Cependant, pour l'histologie, le type d'échantillons à prendre sont des morceaux de viande, ce qui n'est pas représentatif d'une contamination en surface recherchée dans le cadre de cet avis.

procédés d'abattage appliqués dans chaque abattoir. Cette enquête devrait se faire à l'aide d'une check liste adaptée à la Belgique et exhaustive, reprenant tous les points critiques pour la contamination de la viande de la tête par du tissu du SNC tout le long de la chaîne d'abattage jusqu'aux ateliers de découpe. Un tableau reprenant ces points critiques est proposé à **l'annexe 3, colonnes A et B**. Pour une étude de prévalence éventuelle, une check liste devrait être rédigée sur base de ce tableau afin d'obtenir une bonne idée de la qualité des procédés d'abattage dans chaque abattoir.

Ensuite seulement, après que la prévalence globale en Belgique ait été estimée suite au dépistage, et que les facteurs de risque sont connus pour chaque abattoir suite à l'enquête, des corrélations entre prévalence et présence de facteurs de risque peuvent être établies. Un niveau de risque peut ensuite être estimé pour chaque abattoir. Une prévalence individuelle pour chaque abattoir pourrait alors être estimée sur base du niveau de risque estimé. Sur base de cette prévalence individuelle, un plan d'échantillonnage pourrait dans un second temps être établi, avec une taille d'échantillon propre pour chaque abattoir, et des mesures correctives peuvent éventuellement être envisagées. Ceci permettrait également de calculer des Odds ratios afin d'évaluer quel(s) facteur(s) de risque a (ont) une influence sur la contamination des têtes et de cibler les mesures correctives les plus pertinentes (voir point 3.2.2.).

Le Comité scientifique recommande les modalités suivantes pour le dépistage de tissu du SNC au niveau des abattoirs :

- avec le test Ridascreen, car il est actuellement le seul test implémenté pour cette application en Belgique, après détermination d'une valeur cut-off permettant d'obtenir une sensibilité et une spécificité optimales, et avec correction des résultats de prévalence obtenus pour la sensibilité et la spécificité
- la détermination de la taille de l'échantillon pour estimer la prévalence de contamination dans les différents abattoirs a été établie à l'aide du logiciel WinEpiscope 2.0 en considérant une population totale de 493 434 animaux abattus, une prévalence attendue de 2% (voir étude de l'ULg), une précision de 0,5% et un niveau de confiance de 95%. Elle est de 3012 échantillons à répartir aléatoirement dans les 61 abattoirs en fonction de leurs capacités (**voir annexe 2, colonne C**), c'est à dire aussi bien dans les abattoirs pratiquant eux-même la découpe de la viande de tête ou pratiquant la canalisation que dans les abattoirs envoyant les têtes à une usine de destruction (voir point 3.1.5). Pour les petits abattoirs, il est nécessaire de déterminer un nombre minimal d'échantillons à prendre (**voir annexe 2, colonne C, abattoirs 1 à 16**). La taille d'échantillon est du même ordre de grandeur que la taille d'échantillon proposée par la DG Politique de Contrôle dans le cadre de cet avis.
- une seule fois et avant la mise en place de mesures correctives afin de ne pas biaiser l'étude.
- échantillonnage réalisé en même temps que le contrôle des procédés d'abattage
- prélèvement de l'échantillon au dernier moment, c'est à dire avant l'acheminement des têtes pour le transport vers l'atelier de découpe ou l'usine de destruction, afin de tenir compte de l'ensemble des contaminations (croisées) qui peuvent avoir lieu dans l'abattoir
- les têtes doivent être choisies aléatoirement et les prises d'échantillon doivent être réparties sur l'ensemble de la journée et sur les 5 jours de la semaine
- procédure d'échantillonnage précise et uniforme pour obtenir des échantillons homogènes, comparables et interprétables pour tous les abattoirs. La procédure d'échantillonnage dépend de la méthode d'analyse utilisée. Elle

est décrite dans la notice explicative du fabricant, qu'il est recommandé de consulter. Dans le cas de la méthode Ridascreen, l'échantillonnage devrait se faire, notamment, de la manière suivante :

- par dissection au bistouri d'une surface de 10 cm X 10 cm (100 cm²) parallèlement à la surface du masséter et mise dans un sachet en plastique étiqueté
- cet échantillon peut être congelé, la congélation n'influençant pas les résultats de l'analyse
- sur la face externe du masséter externe d'un côté et sur la face externe du masséter interne de l'autre côté⁴
- l'analyste réalise lui-même, au laboratoire, le frottis sur les deux surfaces avec le même coton-tige (un seul frottis par tête). Il est à noter qu'en pratique, l'identification des faces externes et internes des masséters n'est pas facile. L'analyste réalise le frottis à l'aide d'un coton tige trempé préalablement dans la solution tampon (1 ml) (voir kit) et ensuite replace dans la solution tampon afin de permettre la dissolution du matériel prélevé dans la solution tampon. Il frotte chaque surface verticalement, horizontalement puis en diagonale pendant au moins 20 secondes.

Afin d'assurer une procédure d'échantillonnage homogène pour tous les abattoirs, le Comité scientifique recommande que cet échantillonnage, ainsi que le contrôle des procédés d'abattage soient réalisés par des personnes ayant reçu une formation spécifique à ce sujet.

Le Comité scientifique fait remarquer que si le Règlement (CE) N°999/2001 n'avait pas imposé un plan d'échantillonnage obligatoirement basé sur un test de laboratoire, l'application d'un plan basé uniquement sur une enquête relative aux procédés d'abattage et des recommandations aurait probablement suffi pour améliorer la qualité des procédés d'abattage.

Selon le Comité scientifique, la réalisation d'un dépistage et d'une enquête sur les procédés d'abattage ainsi que la réalisation d'un plan d'échantillonnage au niveau des ateliers de découpe n'apportera pas d'information pertinente à cause du problème des contaminations croisées inévitables et parce que chaque atelier de découpe reçoit des têtes provenant d'abattoirs possédant un plan d'échantillonnage validé. Cependant, la mise en place d'un plan d'échantillonnage dans les ateliers de découpe est spécifiée par le Règlement (CE) N° 999/2001. Si un plan d'échantillonnage doit être prévu par la DG Politique de Contrôle, alors le Comité scientifique recommande les modalités suivantes pour le dépistage préalable:

- un point critique étant le transport des têtes entre l'abattoir et l'atelier de découpe (contaminations croisées par contact entre les têtes), il est recommandé de prendre l'échantillon dès l'entrée dans l'atelier de découpe après le transport, avant la découpe de la viande des têtes
- la taille d'échantillon est à répartir parmi les ateliers de découpe en fonction de leurs capacités respectives.

3.2.1.3. Evaluation des valeurs limites de prévalence proposées

Cette notion de valeur limite de prévalence ne doit pas être appliquée au dépistage préalable dont le but est simplement d'estimer une prévalence, mais bien lorsque

⁴ Justification : à la fois les masséters externes et internes de la tête sont récoltés. Elle est susceptible d'être contaminée par du tissu du SNC provenant, entre autre, du trou frontal et du *foramen magnum*.

des plans d'échantillonnages seront implémentés suite aux (et selon) les résultats de ce dépistage, afin d'identifier les abattoirs nécessitant la mise en place de mesures correctives.

La DG Politique de Contrôle propose une prévalence acceptable de 2% (un résultat positif sur 50 échantillons) dont la valeur des résultats est inférieure à la valeur du standard 0,4% (degré de contamination modéré selon Troeger *et al.*, 2004), à partir de laquelle il est décidé qu'il y a un problème dans l'abattoir et que des mesures correctives doivent être implémentées.

Selon le Comité scientifique, la détermination de la prévalence acceptable relève de la compétence du gestionnaire du risque. Cependant, cette prévalence acceptable doit tenir compte, entre autre, de la spécificité du test. S'il est décidé d'utiliser le test RIDASCREEN d'une spécificité, par exemple, de 3.2.1.2. 97,4%, cela signifie qu'il y aura d'office 2,6 % de résultats faux positifs. La prévalence acceptable doit donc être au minimum de 2,6%.

La DG Politique de Contrôle propose une valeur cut-off pour le test RIDASCREEN de 0,4%, ce qui correspond, selon Troeger (2004), à une contamination élevée. Le Comité scientifique estime que la valeur cut-off devrait être fixée par le laboratoire qui réalise les tests de manière à obtenir les meilleures sensibilités et spécificités possibles.

3.2.2. Question 2 : Evaluation des mesures correctives

Afin de répondre à cette question de manière optimale, une synthèse de la littérature est présentée dans **l'annexe 3**. A chaque point critique, des recommandations pour prévenir ou diminuer le risque de dispersion de tissu du SNC sont proposées et peuvent faire office de mesures correctives. La pertinence et la faisabilité en pratique de ces mesures correctives sont indiquées dans **l'annexe 3**.

4. Conclusion

Le Comité scientifique estime que, vu la probablement trop faible spécificité du test ELISA Ridascreen actuellement mis au point en Belgique et l'absence de connaissance de la prévalence actuelle de tissu du SNC à la surface de la viande de tête dans les abattoirs belges, l'application d'un plan d'échantillonnage n'apportera pas d'information pertinente sur le niveau de qualité des procédés d'abattage et ne permettra pas de différencier les niveaux de qualité de ces procédés d'abattage dans les différents abattoirs.

Par contre, le Comité scientifique recommande la mise en place d'un dépistage (screening) préalable avec prise d'échantillons au niveau de tous les abattoirs belges, associé à une enquête sur les procédés d'abattage appliqués à l'aide d'une check liste exhaustive reprenant tous les points critiques. Sur base de ces données, des corrélations entre prévalence et présence de points critiques pourront être établies dans ces abattoirs, et des facteurs de risque pourront être déterminés pour chaque abattoir. Ensuite, une fois le niveau de prévalence estimé pour chaque abattoir sur base des facteurs de risque présents, un plan d'échantillonnage pourrait être envisagé afin d'éventuellement émettre des mesures correctives. Selon le Comité scientifique, la mise en place d'un plan d'échantillonnage pour les ateliers de découpe n'est pas justifiée.

Le dépistage peut être réalisé à l'aide du test RIDASCREEN, mais le Comité scientifique recommande que les analyses soient réalisées, dans un premier temps, par un laboratoire de référence pour l'homogénéité des résultats, après mise au point et établissement d'une valeur cut-off permettant d'obtenir une sensibilité et une spécificité optimales.

Une liste exhaustive de points critiques pour la contamination des têtes et des carcasses par du tissu du SNC dans les abattoirs, associée à des recommandations visant à diminuer le risque de contamination, a été élaborée respectivement pour la réalisation du contrôle des procédés d'abattage et pour les mesures correctives.

Pour le Comité scientifique,

Le Président,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert

Bruxelles, le 10 octobre 2008

Références

Anil M.H., Love S., Williams S., Shand A., McKinstry J.L., Helps C.R., Waterman-Pearson A., Seghatchian J., Harbour D.A. Potential contamination of beef carcasses with brain tissue at slaughter. *Vet. Record*, **1999**, 145, 460-462.

Agazzi M.E., Barrero Moreno J.M., Lückner E., von Holst C. And Anklam E. Performance comparison of two analytical methods for the detection of tissues of the central nervous system in sausages: results of an interlaboratory study. *European Food Research and Technology*, **2002**, 215, 334-9.

Agazzi M-E., Barrero Moreno J., von Holst C., Lückner E. And Anklam E. Quantitative analysis of tissues of the central nervous system in food products by GFAP-ELISA test kit. Results of an interlaboratory study. *Food Control*, **2004**, 15, 297-301.

Avis 10-**2007** du Comité scientifique concernant l'évaluation du risque pour la sécurité alimentaire de la contamination de la viande de la tête par du tissu du système nerveux central chez les bovins (contexte ESB).

URL : http://www.afsca.be/home/com-sci/doc07/2007-05-11-AVIS102007_fr.pdf;

http://www.afsca.be/home/com-sci/doc07/ADVIES10-2007_NL_DOSSIER2007_02.pdf

Biedermann W., Lückner E., Porschmann E., Lachhab S., Truyen U., Hensel A. Structural characterisation of some fatty acids from the brain as biomarkers of BSE risk material. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, 379, 1031-8.

Bozzetta E., Nappi R., Ru G., Negro M., Maurella C., Caramelli M. Evaluation of an Enzyme Immunoassay for the detection of central nervous system tissue contamination at the slaughterhouse. *J. Food Prot.*, **2006**, 69 (9), 2289-2292.

Bülte M., Horlacher S. And Simon P. Validation of RIDASCREEN(r)Risk Material-Tests as a detection method for central nervous system in raw and processed food in comparison with the integrated detection method (INV) based on Westernblot. Study, Institute for Veterinart Food Science, Justus-Liebig-Universität Gießen, **2001**.

EFSA. Report of the EFSA Working Group on BSE risk from dissemination of brain particles in blood and carcass, 2004. Question N° EFSA-Q-2003-122. Annex to the EFSA Journal (**2004**) 123 on the opinion on BSE risk from dissemination of brain particles in blood and carcass following stunning.

Hajmeer M., Cliver D.O. and Provost R. Spinal cord tissue detection in comminuted beef: comparison of two immunological methods. *Meat Sci.*, **2003**, 65, 757-63.

Helps C.R., Hindell P., Hillman T.J., Fisher A.V., Anil H., Knight A.C., Whyte R.T., O'Niell D.H., Knowles T.G., and Harbour D.A. Contamination of beef carcasses by spinal cord tissue during splitting. *Food Control.*, **2002**, 13, 417-23.

Hossner K.L., Yemm R.S., Sonnenshein S.E., Mason G.L., Cummings B.A., Reddy M.C.S., Sofos J.N., Scanga J.A., Tatum J.D., Smith G.C. and Belk K.E. Comparison of immunochemical (Enzyme-linked immunosorbent assay) and immunohistochemical methods for the detection of central nervous system tissue in meat products. *J. of Food Prot.*, **2006**, 69, 644-50.

Love S., Helps C.R., Williams S., Shand A., McKinstry J.L., Brown S.N., Harbour D.A. and Anil M.H. Methods for detection of haematogenous dissemination of brain tissue after stunning of cattle with captive bolt guns. *J. Neurosci. Methods*, **2000**, 99, 53-8.

Lückner E. and Bulte M. Procedures for the detection of unwanted ingredients in meat products with regard to bovine spongiform encephalopathy (BSE). 1. Enzymatic analysis of cholesterol- a rapid procedure for the detection of central nervous tissue. *Fleischwirtschaft Int.*, **1998**, 3, 57-62.

Lücker E., Eigenbrodt E., Wenisch S., Failing K., Leiser R. And Bülte M. Development of an integrated procedure for the detection of central nervous tissue in meat products using cholesterol and neuron-specific enolase as markers. *J. Food Prot.*, **1999**, 62, 268-76.

Lücker E., Eigenbrodt E., Wenisch S., Leiser R. and Bülte M. Identification of central nervous system tissue in retail meat products. *J of Food Protection*, **2000**, 63, 258-63.

Lücker E., Hardt M. And Groschup M.H. Detection of CNS and PrPSc in meat products. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.*, **2002**, 115, 111-7

Lücker E., Schlottermüller B. And Martin A. Studies on contamination of beef with tissues of the central nervous system (CNS) as pertaining to slaughtering technology and human BSE-exposure risk. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.*, **2002**, 115, 118-21.

Lücker E., Biedermann W., Lachhab S., Truyen U. and Hensel A. GC-MS detection of central nervous tissues as TSE risk material in meat products: analytical quality and strategy. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, 380, 866-70.

Moje M., Hoffman A., Troeger K., Jankowitsch H., Kolb R. Detection of tissue of the central nervous system on skinned cattle heads and in the right ventricle of cattle hearts after captive bolt stunning. *Jahresbericht der BAFF*, **2002**. Kulmbach, Germany : Bundesanstalt für Fleischforschung.

Prendergast D.M., Sheridan J.J., Daly D.J., McDowell D.A., and Blair I.S. Dissemination of central nervous system tissue from the brain and spinal cord of cattle after captive bolt stunning and carcass splitting. *Meat Science*, **2003**, 65, 1201-9.

Ramantanis S.B. Cattle slaughtering and BSE risks Part I. Potential dissemination of CNS tissue during slaughtering. *Vet. Bull.*, **2004**, 74 (3), 1N-13N

Ramantanis S.B. Cattle slaughtering and BSE risks Part II: Alternative and/or additional means of preventing and/or minimizing the dispersal of CNS material during slaughter. *Vet. Bull.*, **2004**, 74 (6) , 15N-26N

Ramantanis S.B. Alternative cattle slaughtering technologies and/or measures reducing the dissemination of central nervous system tissue during head handling, harvesting of cheek meat and tongue and carcass splitting – a review. *Vet. Arch.*, **2006**, 76, 19-36.

Seyboldt C., John A., von Mueffling T., Nowak B. and Wenzel S. Reverse transcription-polymerase chain reaction assay for species-specific detection of bovins central nervous system tissue in meat and meat products. *J Food Prot.*, **2003**, 66, 644-51

Schmidt G.R., Hossner K.L., Yemm R.S., Gould D.H., and O'Callaghan J.P. An enzyme-linked immunosorbent assay for glial fibrillary acidic protein as an indicator of the presence of brain or spinal cord in meat. *J. Food Prot.*, **1999**, 62, 394-7.

Schmidt G.R., Yemm R.S., Childs K.D., O'Callaghan J.P., Hossner L. The detection of central nervous system tissue on beef carcasses and in comminuted beef. *Journal of Food Protection*, **2001**, 64 (12), 2047-2052.

Schmidt G.R., Yemm R.S., Childs K.D., O'Callaghan J.P. and Hossner K.L. Verification of different glial fibrillary acidic protein analyses as accurate detectors of central nervous system tissue in advanced meat recovery products. *Meat Science*, **2002**, 62, 79-84.

Schönenbrücher H., Abdulmawjood A., Göbel K.A. and Bülte M. Detection of central nervous system tissues in meat products: validation and standardisation of a real-time PCR-based detection system. *Vet. Microbiol.*, **2007**, 123, 336-45.

Schwägele F., Moje M., Troeger K. and Honikel K.O. Detection of central nervous system (CNS) tissue on cattle carcasses after sucking off the spinal cord tissue and splitting. 48th International Congress of Meat Science and Technology, Rome, **2002**, 2, 958-9.

Troeger K. Overview of current and alternative slaughter practices. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., **2004**, 8, 275-81.

Wenisch S., Lucker E., Eigenbrodt R., Leiser R. and Bulter M. Detection of central nervous tissue in meat products: an immunohistochemical approach. Nutr. Res., **1999**, 19, 1165-72.

Membres du Comité scientifique

Le Comité scientifique est composé des membres suivants :

V. Baeten, D. Berkvens, C. Bragard, J.P. Buts, P. Daenens, G. Daube, J. Debevere, P. Delahaut, K. Dewettinck, K. Dierick, R. Ducatelle, L. Herman, A. Huyghebaert, H. Imberechts, J. Lammertyn, G. Maghuin-Rogister, L. Pussemier, C. Saegerman, B. Schiffers, E. Thiry, J. Van Hoof, C. Van Peteghem.

En raison d'une incompatibilité, le(s) membre(s) suivant(s) du Comité scientifique n'a (ont) pas pris part à la délibération lors de l'approbation de l'avis: G. Daube et P. Delahaut.

Remerciements

Le Comité scientifique remercie le secrétariat scientifique et les membres du groupe de travail pour la préparation du projet d'avis. Le groupe de travail était composé des personnes suivantes :

Membres du Comité scientifique	D. Berkvens (rapporteur), J. Van Hoof, C. Saegerman, G. Maghuin Rogister
Experts externes	N. Korsak (ULg), L. De Zutter (UGent)

Cadre juridique de l'avis

Loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, notamment l'article 8;

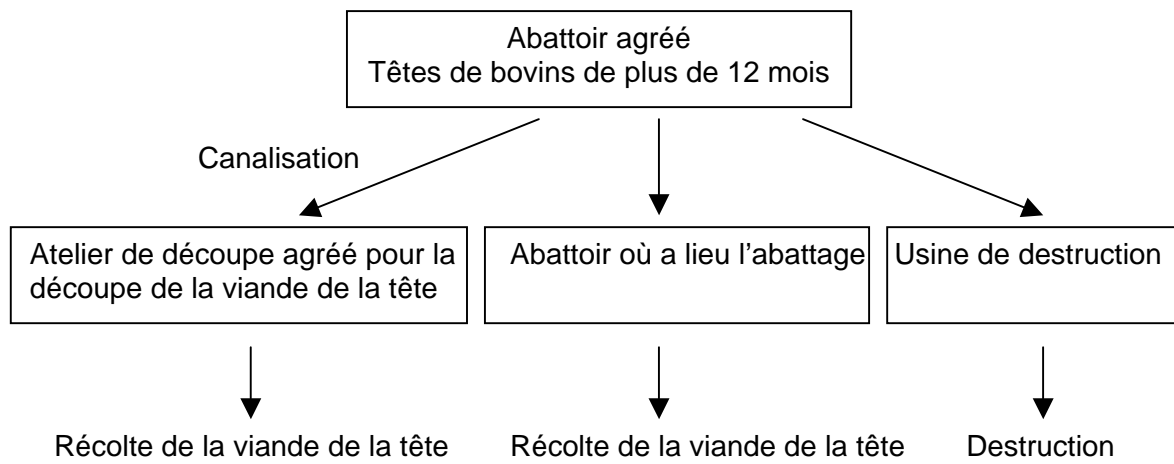
Arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire;

Règlement d'ordre intérieur visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 27 mars 2006.

Disclaimer

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

Annexe 1. Circuits autorisés pour la récolte de la viande de la tête des bovins âgés de plus de 12 mois.



Annexe 2.**a. Nombre et capacité des abattoirs belges en 2007.**

A	B	C
Abattoirs	Capacité (nombre de bovins > 12 mois abattus par an par abattoir)	Taille échantillon (nombre de têtes) minimum arrondie à l'unité supérieure
1	22	3
2	23	3
3	23	3
4	31	3
5	44	3
6	45	3
7	49	3
8	49	3
9	52	3
10	73	3
11	75	3
12	76	3
13	117	3
14	225	3
15	248	3
16	281	3 ⁵
17	363	3
18	435	3
19	486	3
20	565	4
21	630	4
22	926	6
23	1160	8
24	1256	8
25	1267	8
26	1454	9
27	1509	10
28	2080	13
29	2300	14
30	2845	18
21	2876	18
32	3651	23
33	4263	26
34	4807	30
35	4987	31
36	5058	31
37	5536	34
38	6610	41
39	6652	41
40	7575	17

⁵ Les valeurs "3" données pour les abattoirs 1 à 16 sont proposées comme taille d'échantillon minimum en raison de la faible capacité de ces abattoirs

41	8341	51
42	8591	53
43	8923	55
44	10432	64
45	10976	67
46	12118	74
47	12706	78
48	14006	86
49	14471	88
50	16222	99
51	18772	115
52	22515	137
53	23899	146
54	24183	148
55	25434	155
56	27301	166
57	28583	174
58	31276	191
59	33380	203
60	33797	206
61	36784	224
Total bovins > 12 mois	493 434	
Total abattoirs	61	
Taille échantillon		3000

b. Nombre et capacité des ateliers de découpe belges agréés pour la découpe de la viande de tête en 2007.

A	B
Ateliers de découpe agréé	Capacité (nombre de têtes découpées par an) (! pas de distinction de l'âge)
1	0
2	0
3	0
4	0
5	0
6	26447
7	45515
8	± 120000
9	200490
Total têtes de bovins	392452
Total ateliers	9

Annexe 3. Check liste exhaustive des points critiques pour la contamination des têtes et des carcasses de bovins par du tissu du système nerveux central (SNC) dans les abattoirs et recommandations (Ramantanis *et al.*, 2004 a et b, Ramantanis *et al.*, 2006, Troeger *et al.*, 2004).

La pertinence et la faisabilité pour la Belgique des recommandations sont quantifiées (0, +, ++ ou +++).

A	B	C
Etape de la chaîne d'abattage	Points critiques (risque de contamination de la tête ou de la carcasse)	Recommandations (mesures correctives)
A. Etourdissement à l'aide d'un pistolet à tige captive pénétrante		<i>Pertinence et faisabilité en pratique en Belgique : 0, +, ++, +++</i>
	Sortie de particules du SNC par le trou frontal et dissémination sur le sol, l'équipement, le personnel et dans tout l'abattoir par les mouvements du personnel	Bouchon étanche (++++)
	Dissémination de particules du SNC dans la circulation sanguine (sang veineux, puis cœur, puis poumon), et si particules suffisamment petites, dans le sang artériel et la carcasse entière	Etourdissement à l'aide d'une méthode non pénétrante (par exemple, par commotion (diminue le risque mais ne l'élimine pas, EFSA, 2004), électrique (problèmes de bien-être animal, non validé en Belgique) ou saignée sans étourdissement (Halal, problèmes de bien-être animal) (0))
	Contamination du pistolet et des animaux suivants lors de leur étourdissement	
B. Manipulations de la tête		
	Contamination des mains du personnel et de l'abattoir	
	Lésion des yeux	Pas de récolte de la viande des têtes dont les yeux sont endommagés; écarter les têtes immédiatement après l'expertise post mortem (++++)
B1. Dépeçage de la tête	Fuite des particules du SNC par le trou frontal et contamination de la viande en surface, de l'équipement, du personnel	Méthode d'étourdissement non pénétrante (0)
		Dépeçage mécanique de la tête avant la décapitation simultanément au dépeçage de la carcasse (++++)

B2. Décapitation	Contamination de la carcasse (viande du cou) et/ou des carcasses suivantes par le couteau suite à la coupure de la moelle épinière	Un couteau spécifique uniquement pour la coupe de la tête ; entre chaque animal, bien nettoyer mécaniquement le couteau (+++)
		Section de la moelle épinière au dernier moment (après les muscles du cou et la tête) (+++)
		Un couteau spécial pour couper l'articulation et la moelle épinière (++)
		Emporter immédiatement les têtes découpées vers un local séparé pour les nettoyer (pour éviter que l'eau contaminée par du SNC ne contamine le reste de la viande) (++)
		Couteau différent pour la découpe des muscles du cou (+++)
		Matériel de stérilisation séparé pour les couteaux utilisés pour le retrait des MRS (++)
	Contamination de la viande du cou par la fuite de liquide cérébro-spinal, de moelle épinière et/ou de matériel cérébral par le foramen magnum	Bouchon étanche, durable et adapté aux variations anatomiques (taille, forme du foramen magnum) (+++)
		Echantillonnage pour l'ESB immédiatement avant la mise en place du bouchon afin de ne pas devoir le retirer ou fermer immédiatement le <i>foramen magnum</i> après l'échantillonnage (+++)
		Retirer la viande contaminée à l'aide d'un couteau jetable et propre (+)
		Eviter de travailler sur les tables; si la prise d'échantillon du cerveau se fait sur une table, déposer la tête sur un plastique à usage unique (++)
		Eviter les manipulations inutiles (par exemple, retourner les têtes) (+++)
B3. Retrait des cornes	Fuite de matériel cérébral si coupure des cornes trop près de la boîte crânienne	Retrait des cornes sans ouvrir la cavité crânienne (+++)
B4. lavage de la tête	Aérosols et contamination de l'équipement, de l'environnement, du personnel et des carcasses	Lavage dans un local isolé et en tout cas pas à proximité des carcasses (++)
		Bouchons étanches (+++)
		Nettoyer à basse pression (+++)

		Nettoyer les faces internes de la tête et limiter le nettoyage des faces externes afin d'éviter la dissémination de particules à la surface de la viande (+)
		Après la découpe, toujours tenir la tête suspendue avec le nez vers le haut (+++)
		Inspection de la tête dans le local de lavage ; couteau propre pour chaque animal (++)
	Contamination de l'eau de rinçage	Récolte séparée et destruction de l'eau de rinçage (0)
C. Récolte des tissus (viande des joues et langue)		
C1. Transport vers l'atelier de découpe	si têtes rassemblées dans une cage, contamination croisée de la surface des têtes par contact entre les têtes lors des secousses	Interdire le transport des têtes rassemblées dans une cage (+++)
	Si têtes suspendues par des crochets sur plusieurs étages sur un convoyeur : dissémination de gouttelettes sur le sol et contamination de l'environnement, et contamination croisée par écoulements par les différents trous des étages supérieurs vers les étages inférieurs	transport des têtes toujours suspendues sur un convoyeur avec le nez vers le haut, côte à côte sans contact et pas les unes au-dessus des autres (+++)
		Bassin collecteur en dessous des têtes (+++)
		Bouchons étanches (+++)
		Inspection visuelle des têtes avant la récolte (signes de contamination, de détérioration (yeux), bouchons) (+++)
C2. récolte de la langue	Contamination croisée à partir du foramen magnum et à partir des amygdales	Récolte d'une partie de la langue (« <i>short tongue</i> ») par section transversale en avant du processus lingual de l'os basiyoïde avec un couteau séparé et propre (+++)
C3. Récolte de la viande de la joue		Lavage mécanique des couteaux avant stérilisation à la chaleur (+++)
		Pas de récolte de la viande des têtes ne répondant pas aux conditions ci-dessus (+++)
D. Fente de la carcasse et traitement ultérieur de la carcasse		

D.1. Fente longitudinale de la colonne vertébrale à l'aide d'une scie	Ouverture du canal médullaire et danger de coupure de la moelle épinière entraînant une contamination de la carcasse (surtout la face interne), de l'environnement, de l'eau de rinçage, ainsi que de l'équipement et des mains du personnel pouvant provoquer des contaminations croisées des carcasses suivantes	Aspiration sous vide de la moelle épinière avant la fente de la carcasse à l'aide d'un tuyau en PVC nécessitant un appareil d'aspiration différent de l'appareil d'aspiration des autres parties de la carcasse ; inconvénients : dans un tiers des cas, des morceaux de moelle restent dans le canal ; risque de perforation de la dure mère (++)
		Changement de gants et désinfection de l'équipement entre chaque carcasse (0)
	Danger de contamination des carcasses suite au retrait de la moelle épinière à la main et l'aspiration des restes après la fente	Infrastructure adéquate permettant d'éviter la dispersion de particules par les éclaboussures et les jets d'eau (++)
	Retrait incomplet de la moelle épinière	Utilisation d'un système de fente paramédian à l'aide d'une scie à deux lames parallèles ou d'une scie cylindrique éliminant entièrement les vertèbres sans ouverture du canal médullaire; inconvénient: coupure des ganglions rachidiens et les racines nerveuses au niveau des ouvertures intervertébrales (++)
		Désossage de la carcasse sans procéder à la fente de la carcasse (0)
D.2. Lavage et découpe de la carcasse	Contamination de la carcasse et de l'équipement par les résidus du sciage, et contaminations croisées des carcasses adjacentes	Collecte des résidus du sciage par aspiration sous vide (+)