



Maisons-Alfort, le 29 juin 2012

Le directeur général

AVIS
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à l'évaluation des risques liés à
un projet de modification de la Charte sanitaire
dans le cadre de la lutte contre les salmonelles
dans les troupeaux de volailles

Deuxième partie : proposition de protocoles alternatifs au formaldéhyde pour la désinfection des œufs sur le site de ponte, permettant de garantir une bonne efficacité contre les salmonelles dans le respect de la réglementation des produits

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L. 1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses a été saisie le 1^{er} septembre 2011 par la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) d'une demande d'évaluation des risques liés à un projet de modification de la Charte sanitaire dans le cadre de la lutte contre les salmonelles dans les troupeaux de volailles.

CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Compte tenu des difficultés rencontrées par les éleveurs dans la désinfection des œufs à couver produits par les troupeaux de *Gallus gallus* et *Meleagris gallopavo* (notamment liées au nouveau classement de la substance chimique formaldéhyde), la DGAL souhaitait l'avis de l'Anses sur :

- d'une part, l'évaluation des risques liés à la suppression de la double désinfection des œufs à couver produits par les troupeaux de reproducteurs en élevages *Gallus gallus* et *Meleagris gallopavo* (première partie de la saisine à laquelle l'Anses a donné réponse dans son avis en date du 23 février 2012) et,
- d'autre part, la proposition de protocoles alternatifs au formaldéhyde pour la désinfection des œufs sur le site de ponte, permettant de garantir une bonne efficacité contre les salmonelles dans le respect de la réglementation des produits.

Le présent avis répond à la deuxième partie de la saisine.

ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé « Santé animale » (CES SANT). L'Anses a confié l'expertise au groupe de travail « Charte sanitaire salmonelles » (GT CSS). Le GT CSS a fait appel aux compétences d'experts des laboratoires de l'Anses Ploufragan, de l'Anses de Fougères et du CES SANT, ainsi qu'aux compétences des équipes scientifiques des unités « Evaluation des dangers et des risques des substances », « Observatoires et bases de données/Substitution CMR et Substances » et « Evaluation des risques liés à la santé, à l'alimentation et au bien-être des animaux » de l'Anses.

Les travaux du GT CSS ont été présentés au CES SANT, qui s'est réuni les 9 mai et 6 juin 2012. Ils ont été adoptés par voie télématique le 19 juin 2012.

L'expertise s'est appuyée sur les éléments suivants :

- La lettre de saisine et les documents joints à la saisine :
 - o Note de service N2010/SDSSA/N2010-8301 relative aux « normes de commercialisation des œufs à couver (OAC) destinés à l'alimentation humaine, code producteur et couvoir collecteur » ;
 - o Le projet d'arrêté modifiant l'Arrêté du 22 décembre 2009 relatif aux modalités de la participation financière de l'Etat à la lutte contre les infections à *Salmonella* dans les troupeaux de reproduction de l'espèce *Meleagris gallopavo* ;
- L'audition du directeur adjoint de l'Institut technique de l'aviculture (ITAVI), dans le cadre des réunions de travail du premier sous-groupe du GT CSS.
Dans les délais impartis, il n'a pas été possible d'auditionner la Mutualité sociale agricole ;
- Les références bibliographiques indiquées en fin de rapport ;
- Les réunions de travail des 6 février, 29 mars et 29 mai 2012 du sous-groupe du GT CSS chargé de répondre à la deuxième partie de la saisine 2011-SA-0234 ;
- les échanges entre les membres du GT et le CES SANT.

ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

L'argumentaire de l'Anses est fondé sur l'avis du CES SANT, dont les éléments sont présentés ci-dessous :

« 1. Cadre réglementaire

La substance de référence utilisée pour la désinfection des œufs à couver étant le formaldéhyde, il est important de définir quel cadre réglementaire s'applique à cette substance et les obligations qui en découlent, notamment en matière de substitution.

1.1. Réglementation européenne du formaldéhyde

Selon l'annexe VI du Règlement (CE) n° 1272/2008 du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges (nouveau

Règlement CLP, pour Classification, Labelling and Packaging), *le formaldéhyde est actuellement classé, pour les mentions relatives aux dangers pour la santé, comme :*

- *Cancérogène de catégorie 2 (classe de danger la plus faible). Le niveau des preuves scientifiques disponibles au moment de l'élaboration de cette classification permet de définir le formaldéhyde comme susceptible de provoquer le cancer ;*
- *Toxique de catégorie 3 par inhalation, par contact cutané et par ingestion. Cette toxicité correspond au caractère irritant du formaldéhyde, observé quelle que soit la voie d'exposition ;*
- *Corrosif cutané de catégorie 1B. Le formaldéhyde est une substance corrosive pouvant provoquer des brûlures graves, par contact cutané ou lors de projections oculaires ;*
- *Sensibilisant cutané de catégorie 1 (classe de danger la plus élevée). Par voie cutanée, le formaldéhyde est une substance pouvant provoquer l'apparition d'allergies.*

En 2012, l'Agence européenne des substances chimiques (ECHA – European chemicals agency), responsable de la classification, de l'étiquetage des substances chimiques dangereuses, doit engager une discussion sur la modification de la classification du formaldéhyde. En effet, la France a soumis un dossier de classification et étiquetage pour le formaldéhyde, en proposant de le classer, pour les mentions relatives aux dangers pour la santé, comme (modifications indiquées en police normale) :

- *Cancérogène de catégorie 1A (classe de danger la plus élevée). La France considère que les évidences scientifiques sont suffisantes pour considérer que le formaldéhyde peut provoquer un cancer chez l'homme. Cette classification repose sur la mise en évidence d'une relation causale entre une exposition au formaldéhyde chez l'homme et la survenue de cancers du nasopharynx ;*
- *Mutagène de catégorie 2 (classe de danger la plus faible). Cette modification repose sur l'ensemble des tests de génotoxicité et mutagénicité du formaldéhyde réalisé sur cellules germinales uniquement, prouvant que le formaldéhyde est susceptible d'induire des anomalies génétiques ;*
- *Toxique spécifique en exposition unique, de catégorie 3 : le formaldéhyde est considéré comme un toxique spécifique pour les voies respiratoires, à l'origine d'irritations ;*
- *Toxique de catégorie 3 par inhalation, par contact cutané et par ingestion. Cette toxicité correspond au caractère irritant du formaldéhyde, observé quelle que soit la voie d'exposition ;*
- *Corrosif cutané de catégorie 1B. Le formaldéhyde est une substance corrosive pouvant provoquer des brûlures graves, par contact cutané ou lors de projections oculaires ;*
- *Sensibilisant cutané de catégorie 1 (classe de danger la plus élevée). Par voie cutanée, le formaldéhyde est une substance pouvant provoquer l'apparition d'allergies.*

Une position de l'ECHA est attendue en 2013, sur une éventuelle modification de la classification du formaldéhyde. Considérant que la classification et l'étiquetage des substances chimiques dangereuses reposent sur un règlement (règlement CLP), toute modification est aussitôt applicable.

1.2. Réglementation relative à la protection des travailleurs exposés au formaldéhyde

En l'absence d'une réglementation contraignante européenne visant à protéger des effets cancérigènes du formaldéhyde (car toujours classé cancérigène de catégorie 2, selon le règlement CLP), la France a souhaité prendre sans attendre des mesures visant à protéger les travailleurs exposés au formaldéhyde.

Ainsi, par arrêté du 13 juillet 2006 (modifiant l'arrêté du 5 janvier 1993 qui fixe la liste des substances, préparations ou procédés cancérigènes), les travaux professionnels exposant au formaldéhyde sont intégrés à la liste des procédés cancérigènes de catégorie 1A.

Par voie de conséquence, d'après la directive européenne 2004/37/CE du 29 avril 2004 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents cancérigènes au travail, la recherche de substitution est une obligation qui s'impose à l'employeur et prévaut sur toutes les autres mesures de réduction des risques :

- *Si la substitution du formaldéhyde n'est pas techniquement possible, l'employeur assure que son utilisation a lieu dans un système clos.*
- *Si ce dispositif n'est pas techniquement possible, le niveau d'exposition des travailleurs au formaldéhyde doit être réduit à un niveau aussi faible que possible techniquement.*
- *En dernier lieu, l'employeur peut avoir recours à des équipements de protection collective, ou individuelle.*

1.3. Réglementation applicable : interrogation sur le statut réglementaire des produits de désinfection des œufs à couver

Compte tenu de l'évolution de la réglementation française, les travaux professionnels exposant au formaldéhyde sont désormais considérés comme des procédés cancérigènes par le code du travail. La substance ne peut être utilisée, sauf à démontrer son besoin impérieux dans cette filière, et sous réserve que les protections adéquates aient pu être mises en place au regard de la sécurité au travail.

Or l'examen des alternatives au formaldéhyde pour la désinfection des œufs à couver a mis en lumière l'absence actuelle de classification réglementaire de ces produits et procédés, notamment au regard de leurs conditions de mise sur le marché et d'utilisation. Le CES SANT, compte tenu de la réponse attendue à la partie de la saisine relative à « la proposition de protocoles alternatifs au formaldéhyde, pour la désinfection des œufs sur le site de ponte, permettant de garantir une bonne efficacité contre les salmonelles dans le respect de la réglementation des produits (sans compromettre la sécurité des travailleurs) » fait le constat d'une confusion sur le statut réglementaire des produits et procédés chimiques ou physiques destinés aux traitements des œufs à couver.

Historiquement (de 1975 à 2007), les produits et procédés chimiques de désinfection des œufs à couver étaient gérés par la DGAL comme entrant dans le champ de la réglementation française dite d'« Homologation », en les assimilant aux produits soumis à AMM. Depuis, la gestion de ces dossiers a été transférée au Ministère de l'Ecologie, qui s'interroge sur le bien-fondé de ce statut.

Il semblerait que la position actuelle des autorités serait a priori de considérer les produits chimiques susceptibles de remplacer le formaldéhyde comme des biocides, et plus particulièrement de les assimiler à des produits de désinfection de surfaces ou de locaux (classification en « Type de produit 3 » ou TP3 dans le cadre de l'hygiène vétérinaire), sous réserve que cet usage ne soit pas déjà couvert par d'autres réglementations et qu'il y ait quelques aménagements réglementaires. Ces produits seraient donc commercialisés sous la

responsabilité des sociétés, mais ils devraient toutefois être en conformité avec des obligations afférentes à la mise sur le marché de tout produit biocide en France durant la période transitoire. Rappelons à ce titre que la réglementation « Biocides » a pour objectif d'harmoniser le marché européen et d'assurer un haut niveau de protection de l'homme et de l'environnement. Le processus d'autorisation des substances actives au niveau européen prévoit notamment l'évaluation de leurs propriétés physico-chimiques, toxicologiques, éco toxicologiques, environnementales et d'efficacité. L'industriel devra s'y conformer, en sus des déclarations des produits, étiquetage spécifique etc. prévus par la réglementation. Cependant, il demeure une difficulté juridique, soulevée par le Ministère de l'Ecologie, qui ne prévoit pas d'assimiler un œuf à une surface ou à un « local ». Dans l'attente d'un système d'autorisation approprié, il serait nécessaire qu'une note officielle des autorités indique aux professionnels dans quelle catégorie réglementaire actuelle ils peuvent choisir les substances destinées à la désinfection des œufs à couvrir.

1.4. Cadre communautaire actuel et à venir pour la désinfection des œufs à couvrir

Il n'a été trouvé aucune trace d'un cadre réglementaire donnant une définition de la désinfection des œufs à couvrir au niveau communautaire, ni d'indication sur la manière dont l'œuf doit être considéré (comme une surface inerte ou comme, par exemple, un animal ou un aliment).

Les seuls documents accessibles sont des guides de bonnes pratiques européens recommandant la désinfection des œufs à couvrir et laissant à l'exploitant la responsabilité de trouver les conditions de mise en œuvre.

Il semblerait donc que l'Union Européenne (comme la France) se caractérise par l'absence de classification réglementaire des produits et procédés chimiques ou physiques permettant la désinfection des œufs à couvrir, notamment au regard de leurs conditions de mise sur le marché et d'utilisation.

En résumé, au niveau européen, le formaldéhyde est classé comme cancérigène de catégorie 2 (classe de danger la plus faible), comme toxique de classe 3 (caractère irritant) ; corrosif cutané de catégorie 1B (susceptible de provoquer des brûlures) et sensibilisant cutané de catégorie 1 (provoquant des allergies). La France a proposé de modifier le classement du formaldéhyde : cancérigène de classe 1A (classe de danger la plus élevée), mutagène de catégorie 2 (classe de danger la plus faible) et toxique spécifique en exposition unique de catégorie 3 (irritations respiratoires). Sans attendre le résultat de cette proposition, la France a intégré le formaldéhyde à la liste des cancérigènes de catégorie 1A dans la réglementation nationale. Il s'ensuit que la recherche de solution de substitution au formaldéhyde est obligatoire et que, si elle n'est pas techniquement possible, l'employeur doit avoir recours à des mesures de protection des travailleurs.

Le statut réglementaire des produits et procédés physiques ou chimiques qui pourraient constituer une alternative au formaldéhyde pour la désinfection des œufs à couvrir n'est pas encore éclairci. La position actuelle des autorités serait de les considérer comme des produits et procédés chimiques biocides classés en « Type de produit 3 ». En l'absence de confirmation officielle d'un tel positionnement, le CES SANT a donc étudié l'ensemble des produits et procédés disponibles et cités dans la bibliographie et/ou par les professionnels, sans s'attacher à leur statut réglementaire.

2. Etat des lieux des pratiques en France et en Europe

2.1. Etat des lieux des pratiques en France

Les pratiques mises en œuvre dans les entreprises d'accouaison en réponse aux exigences règlementaires ne font pas l'objet d'un recensement officiel ou régulier. Cependant, comme cela a été présenté dans le premier avis en date du 23 février 2012, des enquêtes ponctuelles effectuées par le Syndicat National des Accoueurs auprès de ses adhérents (une cinquantaine de couvoirs producteurs de poussins Gallus gallus et une dizaine de couvoirs producteurs de dindonneaux Meleagris gallopavo) fournissent des indications, non exhaustives, quant aux pratiques mises en œuvre en 2005 et 2011 (Tableau 1).

Tableau 1 : Pratiques relatives à la désinfection des œufs à couvrir : proportion des établissements pratiquant une désinfection unique ou double, avec ou sans formaldéhyde (Source : extraction des enquêtes 2005 et 2011 fournies par le Syndicat National des Accoueurs, J. Puterflam, ITAVI)

	2005	2011
Nombre d'entreprises d'accouaison ayant répondu à la consultation (Gallus gallus+ Meleagris gallopavo)	27	12
Nombre d'entreprises d'accouaison recourant à une désinfection unique des OAC (à l'élevage, dans le camion ou au couvoir)	15 (56%)	3 (25%)
Nombre d'entreprises d'accouaison recourant à deux désinfections ou plus des OAC (à l'élevage, dans le camion et/ou au couvoir)	12 (44%)	9 (75%)
Nombre d'entreprises d'accouaison pratiquant une désinfection des OAC en élevage	17 (63%)	11 (92%)
<i>Dont : nombre de ces entreprises utilisant le formaldéhyde</i>	6 (35%)	3 (27%)
Nombre d'entreprises d'accouaison pratiquant une désinfection au couvoir	15 (56%)	10 (83%)
<i>Dont : nombre de ces entreprises utilisant le formaldéhyde</i>	8 (53%)	2 (20%)

L'ITAVI n'a pas fourni le détail des produits de substitution au formaldéhyde pour la désinfection des OAC, ni leurs modalités d'utilisation.

2.2. Etat des lieux des pratiques en Europe

Les Laboratoires Nationaux de Référence ont été contactés par voie électronique par l'intermédiaire du Laboratoire de Référence de l'Union Européenne du RIVM (National Institute for Public Health and the Environment, Pays-Bas). Treize pays ont répondu à cette requête (cf. tableau 2). La dernière colonne du tableau présente quant à elle le niveau de production estimé d'œufs à couvrir de ces différents pays d'après les mises en place de

« poussins de ponte » et de « poussins de chair » (résultats 2011, Source : <http://circa.europa.eu>).

Tableau 2 : Etat des lieux des pratiques en Europe en matière de désinfection des œufs à couvrir

	Pratique de la double désinfection	Formaldéhyde (Alternatives)	Commentaires	Production d'OAC* (Pourcentage de la production de l'UE)
Allemagne	Oui	Absence de réponse	Double désinfection recommandée	41 533 (13%)
Belgique	Non, une seule désinfection avant la mise à l'incubateur	Oui	-	2 951 (0,9%)
Croatie	Oui : à la ferme et au couvoir	Oui	-	Adhésion en 2013
Danemark	Oui : à la ferme et au couvoir	Absence de réponse	-	3 043 (0,9%)
France	Oui	Oui	Utilisation du formaldéhyde en régression	51 895 (16%)
Italie	Désinfection à la ferme (produits ci-contre) Au couvoir, double choix : brumisation des œufs dans les salles dédiées ou désinfection générale (brouillard sec) dans la salle de transfert	Non (H ₂ O ₂ , acide peracétique**, glutaraldéhyde, agents oxydants, etc.)	Changement de biocides (formaldéhyde) pour des raisons de sécurité	33 109 (10%)
Lettonie	Non : une seule au couvoir Oui : en cas de précédente infection du troupeau et pour les troupeaux de reproducteurs	Non (Glutaraldéhyde)	-	3 298 (1%)
Luxembourg	-	-	Pas de couvoirs Pas d'expérience en la matière	- (-)
Royaume-Uni	Non : au couvoir seulement mais plusieurs applications (brumisation ou lavage des œufs à réception puis deux à trois fois par semaine pendant l'incubation)	Non (produits à base d'acide peracétique**)	Quelques rares pratiques de désinfection des plateaux au formaldéhyde	30 750 (9,5%)
Slovénie	Oui : majoritairement fermes puis couvoirs (parfois désinfection seulement au couvoir, mais à deux reprises, à la réception et au cours du process)	Oui	Certains producteurs	854 (0,3%)

	Pratique de la double désinfection	Formaldéhyde (Alternatives)	Commentaires	Production d'OAC* (Pourcentage de la production de l'UE)
Suisse	-	Oui		Non adhérent de l'UE (-)
Turquie	Oui (fermes – couvoirs)	Oui	<i>En cas de positivité à Salmonella : nouvelle désinfection avec des concentrations double ou triple</i>	Non adhérent de l'UE (-)
République Tchèque	Oui	Oui	<i>Si une seule désinfection : risque accru évoqué d'infection à Salmonella</i>	6 546 (2%)
Total UE 26			-	324 087 (100%)

* production d'OAC, en milliers, estimée d'après les mises en place de « poussins de ponte » et de « poussins de chair », résultats 2011, disponibles sur le site <http://circa.europa.eu>

** absence de données bibliographiques pour cette utilisation dans la désinfection des OAC

- : absence de commentaire ou de donnée

Les pratiques de désinfection en ferme et au couvoir sont variables selon les pays ayant répondu à l'enquête. En dehors de la France, le formaldéhyde reste encore utilisé par six pays sur les neuf qui se sont exprimés sur ce sujet.

3. Alternatives au formaldéhyde décrites à ce jour dans la désinfection des œufs à couvrir : bilan bibliographique

L'évaluation de l'efficacité des programmes de nettoyage et désinfection est un élément essentiel parmi toutes les mesures d'hygiène prises dans le secteur avicole. Dans cette filière, l'objectif est la maîtrise et le contrôle des microorganismes que sont, a minima, Salmonella spp., Pseudomonas spp., Escherichia coli, Staphylococcus spp., Streptococcus spp. et Aspergillus spp., et cela à cinq niveaux : les œufs, les surfaces (locaux, matériels), l'air, les véhicules et les personnels. L'obtention d'un niveau d'efficacité satisfaisant de la désinfection suppose au préalable la mise en place d'un nettoyage éliminant les souillures organiques, les poussières, les plumes et les litières qui protègent ces microorganismes de l'action des désinfectants et des procédés de désinfection. Afin d'atteindre ces cibles, la sélection des désinfectants doit se faire en premier lieu sur la base de leur niveau de performance intrinsèque vis-à-vis de ce spectre. Cependant, de très nombreux autres paramètres doivent aussi être pris en compte. Parmi ceux-ci, l'aptitude des désinfectants à conserver leur efficacité en présence de résidus de souillures organiques, mais aussi en fonction de leurs concentrations, de la quantité de produit en rapport avec la surface ou le volume à traiter, le temps de contact, la température, l'humidité relative, le procédé d'application (trempage, pulvérisation, nébulisation, fumigation), et pour certaines applications la possibilité de rendre hermétique le local (armoire ou salle) contenant les œufs.

En plus de tous ces critères, cette notion d'efficacité appliquée aux produits de traitement des œufs doit faire intervenir d'autres paramètres. Elle doit inclure des connaissances sur

l'impact de ces traitements sur l'intégrité de la cuticule, sur la perméabilité et l'éclosabilité des œufs, ainsi que sur la mortalité embryonnaire et la capacité de développement du poussin les jours suivant l'éclosion.

En l'absence de telles données, il serait souhaitable d'envisager des expérimentations spécifiques pour la sélection la plus adaptée des produits et procédés alternatifs au formaldéhyde.

En marge des points précédents, les experts attirent l'attention sur la nécessité d'étudier la compatibilité des produits avec l'environnement et l'organisation du travail, sans oublier que le choix du produit ou procédé devra aussi être guidé par le souci de protéger les personnes en charge de ces traitements.

Il serait également opportun de prendre en compte la compatibilité des produits avec la chaîne alimentaire, pour notamment permettre au producteur de diriger vers une casserole les œufs exposés au désinfectant et qui n'entreraient pas en incubation.

L'analyse bibliographique développée ci-après souligne la difficulté d'obtenir des données sur l'ensemble de ces paramètres. Elle nous indique également que, même si l'utilisation du formaldéhyde pour le traitement des œufs à couver prédomine depuis fort longtemps, les études comparées de produits puis la recherche d'alternatives au formaldéhyde sont des démarches très anciennes remontant aux années 1950.

En préalable à ce bilan bibliographique, il est important de souligner l'apport majeur du formaldéhyde dans la lutte contre les salmonelles dont l'efficacité est dépendante de l'état de propreté des œufs, de conditions de température et d'humidité relative optimales (ex : 25°C et 70% d'humidité relative) et de concentrations pouvant aller jusqu'à 10g/m³. Ces conditions peuvent permettre d'atteindre des réductions de populations bactériennes sur les coquilles d'œufs supérieures à 99% pour un temps de contact d'au moins 20 minutes sans mortalité embryonnaire. Sur ce dernier point, l'attention est attirée sur le fait que cette désinfection ne doit pas intervenir pendant les neuf premiers jours d'incubation (Cadirci, 2009).

Pour la désinfection des œufs à couver, tous les produits alternatifs au formaldéhyde étudiés au cours de ces nombreuses années doivent être désormais confrontés aux réglementations existantes en 2012.

*En nous référant à la directive Biocides 98/8/CE, une liste de substances actives notifiées existe dans le Règlement (CE) n°1451/2007 régulièrement amendé suite à une série de décisions d'interdictions. Cette réglementation européenne définit les produits biocides « comme les substances et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentes sous **la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur** ». Sous réserve que le type de produits 3 ou TP 3 (hygiène vétérinaire) puisse être concerné par cet usage, 50 substances actives dites « anciennes » pourraient potentiellement être utilisables. Ces substances actives sont en cours d'examen par les autorités compétentes des États Membres de l'U.E. et pourraient être in fine inscrites sur les listes positives de la Commission Européenne à échéance de un à trois ans. Parmi ces substances actives, seules à ce jour quelques unes ont fait l'objet d'études ciblées sur la désinfection des œufs à couver, celles-ci étant présentées ci-après dans l'analyse bibliographique. En outre, il faut noter à ce stade que les procédés physiques (par exemple les ultra-violets [U.V.]) et certaines substances chimiques (par exemple l'ozone) n'entrent pas dans le champ de cette directive biocides 98/8/CE.*

Enfin, il faut souligner que les substances actives, seules ou associées, sont un des ingrédients de formulations plus ou moins complexes, qui constituent les produits biocides. En conséquence, chaque formulation a des propriétés, un niveau de performance et un niveau de risque qui lui sont propres.

En conclusion, un nettoyage préalablement à l'application d'un désinfectant permet d'en accroître l'efficacité.

A côté de l'interrogation sur la réglementation s'appliquant aux produits de traitement des œufs à couver dont la réponse permettra de lister les substances, produits et procédés potentiellement utilisables, il faudra démontrer leur efficacité au regard :

- du spectre d'activité et de l'aptitude à maintenir cette efficacité dans des conditions environnementales complexes,*
- des études d'impact sur les œufs notamment sur le taux d'éclosion, la toxicité embryonnaire et le développement des animaux.*

Il paraît également nécessaire d'évaluer pour ces solutions :

- la compatibilité avec l'environnement et les conditions de travail ;*
- la compatibilité des produits avec la chaîne alimentaire.*

Les données obtenues dans les études bibliographiques sont uniquement valables pour les produits tels que formulés et dans les conditions d'emploi utilisées.

Les données extraites de cette revue bibliographique relative aux alternatives au formaldéhyde sont regroupées par type de produit ou procédé. Les données relatives aux produits sont présentées dans un ordre établi selon la quantité de données bibliographiques disponibles. Les procédés physiques sont présentés en dernier lieu. Ces données sont reprises de manière synthétique à la fin de cette partie dans le tableau 3. Rappelons enfin, qu'en l'absence de données bibliographiques les concernant, certaines substances (exemple de l'acide peracétique, pourtant utilisé pour la désinfection des OAC en Grande Bretagne) ne sont pas étudiées.

3.1. Le peroxyde d'hydrogène

Cette substance active a le pouvoir oxydant le plus fort après l'ozone. Dans différents travaux cette substance active a pu être utilisée dans une gamme de concentrations allant de 1,5% à 6%. Bailey et al. (1996), comparant le peroxyde d'hydrogène à l'ozone et aux ultra-violets, ont appliqué ce procédé dans les éclosiers sur une période de trois jours par nébulisation pendant une ou deux minutes toutes les 10 minutes au moyen d'une solution à 2,5% de peroxyde d'hydrogène suivant un débit de 100 mL ou 500 mL par heure. Ils ont observé une réduction du nombre de salmonelles sur les coquilles d'œufs. De plus, des prélèvements d'air ont permis d'observer des réductions des populations bactériennes de 75 à 99%, sans impact sur l'éclosabilité. Les travaux de Sander et Wilson (1999) allaient dans le même sens après avoir appliqué un brouillard de peroxyde d'hydrogène à la concentration de 3% en phase d'incubation, concluant à une réduction significative de Staphylococcus aureus pris comme indicateur biologique sans qu'il y ait eu d'effet sur l'éclosabilité et sur les animaux suivis jusqu'à 42 jours. De leur côté, Sheldon et Brake (1991) ont fait le constat de l'effet du support qu'était la coquille sur l'efficacité du traitement, observant qu'une concentration de 0,5% a été suffisante pour obtenir une réduction de 5 log₁₀ d'une population bactérienne sur des surfaces de matériels ou équipements, alors que pour obtenir un même niveau de performance sur les coquilles d'œufs il a fallu appliquer la concentration de 5%. Dans ces conditions, le taux d'éclosion a été amélioré de 2% par rapport à un témoin non traité. Quant à la perméabilité, comme pour le formaldéhyde, elle n'a pas été affectée en la comparant à des témoins non traités ou traités avec de l'eau. Cox et al. (1999) ont utilisé des œufs contaminés en surface, par trempage une minute dans une suspension bactérienne (10⁴ cellules/mL), soit de Salmonella Typhimurium, soit de Salmonella Heidelberg, suivi d'un trempage pendant 10 à 15 minutes dans une solution de 1,5% de peroxyde d'hydrogène avant de conclure à l'élimination des bactéries sur 90% des œufs. L'utilisation d'un brouillard de peroxyde d'hydrogène à 3% dans une chambre d'essai a aussi été retenue par Wells et al. (2011) avec une bonne efficacité sur la flore aérobie sans affecter ni l'éclosabilité, ni le démarrage des poussins. Une concentration en peroxyde d'hydrogène du même ordre (1,5%) a été utilisée par Spickler et al. (2011) suivie du

dénombrement de la flore aérobie après une heure de séchage. En appliquant la même concentration de 1,5% de peroxyde d'hydrogène, Musgrove et al. (2010) ont attiré l'attention à la fois sur la méthode de contamination expérimentale des œufs et la méthode d'application du produit. Utilisant comme indicateur *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*, ils ont observé qu'une contamination par trempage plutôt que par dépôt de gouttelettes a rendu la décontamination plus difficile, et que l'application du désinfectant par trempage a permis une plus grande activité comparée à une application par pulvérisation, faisant dans le même temps la remarque que le trempage était moins pratique. Padron (1995) a utilisé le trempage des œufs dans une solution à 6% de peroxyde d'hydrogène avec des réductions modérées de populations de *Salmonella Typhimurium* (55%) et flore aérobie (95%), sans affecter l'éclosabilité. Cette absence d'effet néfaste a aussi été observée par Mandl et al. (1987) utilisant une solution à 2% de peroxyde d'hydrogène pour détruire *Salmonella Senftenberg*. Enfin, travaillant cette fois-ci sur la désinfection de surfaces représentatives des couvoirs, Neighbor et al. (1994), utilisant entre autres indicateurs biologiques *Salmonella Typhimurium*, ont conclu à une moindre efficacité d'une solution à 5% de peroxyde d'hydrogène appliquée par micro-aérosolisation comparativement à une pulvérisation directe, et qu'une concentration minima de 10% a été alors nécessaire pour atteindre le même niveau de performance.

Le peroxyde d'hydrogène a été employé suivant les différents modes d'application que sont la nébulisation, la pulvérisation directe et le trempage dans une gamme de concentrations allant de 1,5% à 6% voire 10%. Les niveaux d'efficacité ont été variables et ont pu dépendre des choix méthodologiques. Aucun effet néfaste sur les taux d'éclosion et la mortalité embryonnaire n'a été observé.

3.2. Les produits chlorés

Ces produits sont classiquement utilisés pour le lavage des œufs depuis longtemps. Rizk et al. (1966), comparant plusieurs désinfectants, ont utilisé comme produit générant du **chlore actif, le dichloroisocyanurate de sodium** (DCCNa). A partir d'œufs contaminés en surface par des salmonelles, des traitements par trempage à la concentration de 200 mg/L de chlore actif pendant cinq minutes ont permis la destruction de ces bactéries. Dans les travaux de Puterflam et al. (2011a) ce même **DCCNa** appliqué par nébulisation à la dose de 158 mg/m³ de chlore actif a permis une réduction de 1,7 log₁₀ de la flore aérobie totale, réduction proche de celle du formaldéhyde appliqué par fumigation à une dose de 3 g/m³. D'autres travaux réalisés sur le terrain (Maris, 1986) ont révélé que l'application en couvoir d'une solution de lavage à faible dose de chlore donnait une réduction de l'ordre de 1 log₁₀. De leur côté, Wang et al. (1998) ont appliqué par trempage 100 mg/L d'**hypochlorite de sodium** qui s'est révélé efficace sur *Salmonella Enteritidis* contaminant artificiellement les œufs ; cette étude a démontré dans le même temps l'absence d'altération de la cuticule. En revanche, Himathongkham et al. (1999) ont constaté la faible activité d'un produit à base de 200 mg/L de chlore actif puisque 87% des œufs traités se sont révélés positifs à la détection de *Salmonella Enteritidis*. Favier et al. (2001) traitant les œufs avec 100 mg/L de chlore actif par trempage sur une flore naturelle ont observé une réduction modérée de 1,28 log₁₀, mais malgré tout plus forte qu'avec le phosphate trisodique. Dans ces mêmes études, à partir d'œufs contaminés en surface par *Yersinia enterocolitica* les réductions bactériennes ont été équivalentes entre ces deux produits, de l'ordre de 3,8 log₁₀. Cela révèle une fois de plus l'importance de la méthodologie et la nécessaire analyse critique des protocoles mis en œuvre.

Le début des années 2000 a vu le développement de travaux à partir d'un procédé ancien (production de chlore actif par **électrolyse d'une eau saline**) appliqué aux œufs. Bialka et al. (2004), après avoir contaminé artificiellement des œufs par *Salmonella Enteritidis* et *Escherichia coli* K12, ont obtenu une réduction de population très significative voisine de 3 log₁₀ dans une étude pilote, observant par ailleurs une altération de la cuticule. Cao et al.

(2008) utilisant une eau électrolysée légèrement acide (pH 6 - 6,5) contenant 15 mg/L de chlore actif pour le trempage trois minutes d'œufs contaminés expérimentalement en surface par *Salmonella Enteritidis* ont conclu à une réduction de population de 6,5 log₁₀. Fassenko et al. (2009) ont travaillé à partir de 2 190 œufs prélevés dans les élevages en suivant les indicateurs naturellement présents qu'ont été les entérobactéries ; l'eau électrolysée à pH acide (5,54) a été appliquée par pulvérisation sans autres précisions sur la concentration en chlore actif. Des réductions de populations bactériennes de 1 à 1,5 log₁₀ ont été obtenues et il a été noté une absence d'effet sur la cuticule, sur le développement de l'embryon et sur l'éclosabilité, cependant, une réduction de la mortalité suivant les deux semaines de production a été observée après comparaison avec un lot témoin non traité.

Les produits chlorés ont le plus souvent été appliqués par trempage pour le lavage des œufs à des doses de 100 à 200 ppm, avec des niveaux de performance variables suivant la nature des indicateurs biologiques et les choix méthodologiques. Il a été noté le développement plus récent de procédés d'électrolyse de l'eau acide ou saline. Il n'a pas été observé d'effet néfaste sur le taux d'éclosion et les embryons.

3.3. Les produits à base d'iode

La bibliographie cite une autre substance parmi les halogènes : **l'iode** qui a cependant été moins employée. En comparaison avec le formaldéhyde par fumigation, des produits à base d'iode, notamment un iodophore à 200 mg/L d'iode actif, se sont révélés efficaces par trempage sans effet néfaste sur l'éclosabilité (Ernst et al., 1974). De son côté, Tchentchev et al. (1968) ont étudié l'activité du chlorure d'iode à 4% sur des œufs artificiellement contaminés par *Salmonella*. Ils en ont conclu qu'un temps de trempage minimal de 12 minutes était nécessaire pour l'expression de son efficacité. Dans d'autres travaux (Himathongkham et al., 1999), le lugol (solution à base de 1% d'iode + 2% d'iodure de potassium) s'est révélé peu actif. Ces conclusions ont rejoint celles de Maris (1986) qui a travaillé avec un produit à base d'un iodophore à 1% d'iode actif dilué à 0,5% (soit 50 mg/L d'iode actif) en le pulvérisant sur des œufs prélevés en élevage avec au final une réduction bactérienne quasi négligeable.

Les produits à base d'iode n'ont pas eu d'effet néfaste sur l'éclosabilité ; cependant, dans plusieurs études, leur efficacité sur les œufs n'a pas été démontrée.

3.4. L'ozone

Cette substance active est l'oxydant le plus puissant, devant le peroxyde d'hydrogène, l'acide hypochloreux et le dioxyde de chlore. Une particularité importante est que sa production ne peut se faire qu'au moment de son emploi, au moyen d'un procédé nécessitant un investissement coûteux en matériel. A la différence du chlore, mais de façon comparable au dioxyde de chlore, l'ozone n'est pas pH dépendant. Dans les travaux de Scott et Swetnam. (1993) qui se sont déjà placées dans une démarche de recherche d'alternatives au formaldéhyde, 23 désinfectants ont été testés à différents temps et concentrations par trempage, dont l'ozone. Trois concentrations (0,75 ; 1,5 et 3 mg/L) se sont révélées inactives après trois heures de contact. Whistler et al. (1989a et b) ont travaillé à une concentration très forte (3%) et deux heures de temps de contact avec une efficacité marquée mais en contrepartie une toxicité embryonnaire forte. Bailey et al. (1996) ont expérimenté l'utilisation de l'ozone en traitement continu à 0,2-0,4 mg/L dans l'air des éclosoirs pendant trois jours, aboutissant à un abaissement de 75 à 99% du nombre de bactéries dans l'air. Deux autres conclusions ont été apportées : il n'est pas noté de diminution de la contamination sur les coquilles d'œufs, ni d'effet néfaste sur l'éclosabilité.

Parmi les travaux plus récents notons ceux de Rodriguez-Romo et Youssef (2005) qui ont démontré une efficacité de l'ozone sans préciser la concentration, après un contact allant jusqu'à 20 minutes, ce temps pouvant être réduit à deux minutes grâce à une action combinée avec les UV. De manière plus approfondie, Braun et al. (2011) ont testé une gamme de concentrations de 0,5 à 5% (p/p) d'ozone sous forme gaz sur des œufs contaminés par 10^2 à 10^6 cfu de *Salmonella Enteritidis* par œuf. En combinant ces doses avec deux niveaux d'humidité relative (30% et 70%) et des temps de contact de 20 minutes à 24 heures, une inactivation complète de 10^4 cfu a été obtenue avec 1% d'ozone après deux heures de contact.

L'ozone est l'oxydant le plus puissant. Il présente la particularité de devoir être produit in situ puis appliqué sous forme de gaz ou de solution. Deux modes d'application ont été étudiés : en traitement d'ambiance dans les incubateurs pendant plusieurs jours à la dose de 0,2 à 0,4 mg/L dans l'air, ou en concentrations fortes de l'ordre de 0,5% à 5% pour quelques heures de contact. Si le niveau d'efficacité a été satisfaisant, certains travaux ont conclu à une toxicité embryonnaire après exposition des œufs pendant deux heures à une concentration de 3%.

3.5. Le dioxyde de chlore

A côté de l'ozone, du peroxyde d'hydrogène, de l'acide hypochloreux, de l'acide hypobromeux, le dioxyde de chlore est un oxydant puissant. Il est principalement utilisé pour le traitement des eaux. Comme la substance précédente, il doit être préparé sur site en faisant réagir du chlore sur du chlorite de sodium. A notre connaissance, peu de travaux ciblent cette application pour le traitement des œufs. Ernst et al. (1974) travaillant sur des œufs à couver de dindes l'ont utilisé à une concentration de 100 mg/L par trempage, en maintenant la température à 40-41°C, sans effet néfaste sur l'éclosabilité. Patterson et al. (1990) ont orienté plus spécifiquement leur étude sur cette substance en la comparant au formaldéhyde. Trois conclusions marquantes ont pu être mises en évidence :

- réduction du taux d'éclosion lorsque la durée de trempage est supérieure à cinq minutes pour la concentration de 100 mg/L ou lorsque la concentration de dioxyde de chlore est supérieure à 100 mg/L pour une durée de contact inférieure à cinq minutes ;
- absence d'effet néfaste sur l'éclosion lors de l'application de cette substance sous forme de mousse ;
- amélioration du taux d'éclosion d'au moins 10%, comparativement à un lot témoin non traité, en cas d'application de la forme mousse sur des œufs souillés.

Enfin, une étude de Scott et Swetnam (1993), ne précisant pas la formulation du produit utilisé par trempage, a constaté la faible efficacité du produit et a émis l'hypothèse qu'un phénomène de neutralisation partielle aurait pu se produire au contact de la cuticule.

Le dioxyde de chlore, à l'instar de l'ozone, doit être produit sur site. Il existe relativement peu de travaux publiés pour cet usage qui ont conclu toutefois à un bon niveau d'activité à la concentration de 100 ppm pour un temps de contact maximum de cinq minutes. Au delà de cette concentration ou de ce temps, il a été observé une réduction du taux d'éclosion.

3.6. Produits à base d'ammoniums quaternaires, chlorhexidine ou polyhexaméthylène biguanide

Ces différentes molécules actives sont rassemblées dans le même chapitre parce qu'elles présentent des similarités en termes de propriétés chimiques, de mécanismes d'action et in fine de spectre d'activité. De plus, nous pouvons les retrouver associées dans un même produit. Rizk et al. (1966) ont utilisé des œufs contaminés en surface par des salmonelles puis trempés pendant cinq minutes dans deux produits à base d'ammonium quaternaire ; ces deux produits se sont révélés efficaces sans que l'on ait pu précisément connaître les concentrations en substances actives ; de plus, il a été observé une absence de pénétration de ces bactéries dans l'œuf lui-même. A nouveau, Ernst et al. (1974) ont évalué la performance de deux autres produits similaires contenant 200 mg/L d'ammonium quaternaire ainsi qu'un produit à base de chlorhexidine à 200 mg/L sans constater d'effet sur l'éclosabilité. Plus tard, Adler et Damassa (1979) ont testé la concentration de 250 mg/L d'ammonium quaternaire avec pour résultats une bonne efficacité et une absence d'effet toxique sur les embryons à partir d'œufs artificiellement contaminés par *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Brake et Sheldon (1990) ont étudié l'effet de deux concentrations d'un produit à base d'ammonium quaternaire appliqué par pulvérisation sur la flore naturelle de l'œuf démontrant des réductions de 98,1 % à 99,9% après 30 minutes, plus une réduction des moisissures et levures. De plus, comparativement à des lots témoins non traités, une augmentation de 6% du taux d'éclosion a été observée. Les auteurs ont expliqué cet effet par l'interaction qui se produit avec la cuticule modifiant la perméabilité. Sur ce dernier point, les travaux de Scott et al. (1993) ne sont pas allés dans le même sens. D'autres travaux de Scott et Swetnam (1993) étudiant l'efficacité de quatre produits à base d'ammonium quaternaire par trempage ont montré une efficacité équivalente au formaldéhyde alors qu'Arhiembuwa et al. (1980) ont conclu à une efficacité moindre des ammoniums quaternaires. Wang et Slavik (1998) utilisant une solution d'ammonium quaternaire à pH 7,5 par lavage des œufs artificiellement contaminés par *Salmonella Enteritidis* ont démontré la diminution de la pénétration de la population de ces microorganismes à travers la coquille allant jusqu'à 16,7% au bout de 21 jours puis ils ont observé par microscopie électronique à la fois la propreté microbiologique et l'absence d'altération de la surface des œufs. Sur cette même espèce bactérienne, Himathongkahm et al. (1999) faisant agir par trempage pendant cinq minutes 5 000 mg/L de chlorhexidine ou 250 mg/L d'ammonium quaternaire n'ont obtenu qu'une réduction logarithmique de 1,86 et 1,4 respectivement. Nous pouvons également citer deux travaux de Puterflam et al. (2011a et b), l'un réalisé en station expérimentale avec, entre autres, trois produits contenant des ammoniums quaternaires associés au glutaraldéhyde appliqués par pulvérisation et produisant une réduction de la flore aérobie des œufs inférieure à 1 log₁₀, le second réalisé sur le terrain, donnant des résultats similaires.

L'interprétation de toutes ces études est difficile car les méthodes mises en œuvre ont impacté les résultats. C'est ce qu'ont essayé de démontrer Musgrove et al. (2010) : utilisant une souche de *Salmonella enterica*, ils ont comparé les effets à la fois de la méthode de contamination expérimentale de la coquille (trempage, dépôt de gouttelettes ou souillures fécales) et la méthode d'application (trempage ou pulvérisation). La méthode de contamination par trempage a rendu difficile la mise en évidence d'une réduction bactérienne quel que soit le mode d'application de l'ammonium quaternaire, et ce fut aussi le cas d'une contamination par des souillures fécales, montrant une faible réduction bactérienne. En revanche, une contamination par dépôt de gouttelettes a permis une réduction plus significative. Dans le même esprit, Spickler et al. (2011) ont étudié et comparé deux protocoles de prélèvement des bactéries après traitement désinfectant en démontrant une équivalence en termes d'évaluation de l'efficacité, même si la méthode de rinçage a un coefficient de récupération des bactéries plus élevé. Dans ces conditions, un mélange de quatre ammoniums quaternaires associés à un biguanide a produit une réduction de la flore aérobie de 1,6 log₁₀.

Les produits à base d'ammoniums quaternaires, chlorhexidine ou polyhexaméthylène biguanide ont des propriétés similaires et ont été globalement utilisés à des concentrations de 200 à 250 mg/L d'ammoniums quaternaires ou 5 000 mg/L de chlorhexidine, le plus souvent par trempage ou pulvérisation pendant des temps courts. Des réductions bactériennes de 1,5 à 3 log₁₀ ont pu être observées, celles-ci dépendant en partie des choix méthodologiques.

Ces produits n'ont pas eu d'effet néfaste sur l'éclosabilité.

3.7. Produits divers : glutaraldéhyde, phénoliques, carbonate de sodium, phosphate trisodique, EDTA, produit catalysé par la peroxydase

Dans la littérature peu d'études ont été identifiées utilisant le **glutaraldéhyde** seul. Nous citerons les travaux de Scott et al. (1993) appliquant par trempage une solution concentrée à 2% de glutaraldéhyde pendant une ou 10 minutes avec une bonne efficacité dans les deux cas, ainsi qu'une absence d'effet sur l'éclosabilité. En l'associant avec des ammoniums quaternaires, nous avons noté dans le chapitre précédent l'absence d'efficacité dans les conditions d'essais des travaux de Puterflam et al. (2011a et b).

Pour les désinfectants à base de **dérivés phénoliques**, trois produits testés par Scott et al. (1993) ont conduit à une efficacité incomplète, alors qu'un quatrième produit, associant un dérivé phénolique à un ammonium quaternaire et de l'alcool, s'est révélé inefficace ; pour ces trois premiers produits il n'y a pas eu d'impact sur l'éclosabilité. Pour Spickler et al. (2011), un produit constitué d'un mélange de trois phénols (o-phénylphénol, o-benzyl-p-chlorophénol et p-ter-amylphénol) a réduit la contamination d'1 log₁₀. De son côté, Ernst et al. (1974) ont appliqué comme dose d'emploi 800 mg/L d'un produit à base de phénols dont la composition exacte n'a pas été détaillée, concluant toutefois à l'absence d'effet négatif sur l'éclosabilité. Rizk et al. (1966) ont utilisé de l'o-phénylphénate ne produisant pas la décontamination totale des salmonelles déposées sur les coquilles. D'autres travaux (Puterflam et al., 2011a et b) employant un mélange essentiellement constitué de « chlorométhylphénol plus benzylchlorophénol » appliqué par pulvérisation n'ont pas produit de réduction significative de la flore aérobie ni en station expérimentale, ni sur le terrain. Par contre, les travaux de Maris (1986) ont pu démontrer l'intérêt d'un produit à base de dérivés phénoliques sur des œufs pondus soit au nid soit au sol.

Plus ponctuellement, le CES SANT signale les travaux de Favier et al. (2001) sur le **phosphate trisodique** testé aux concentrations de 1,5 et 12% sur la flore aérobie mésophile totale avec une efficacité négligeable, alors qu'à la concentration de 12% sur des œufs contaminés avec *Yersinia enterocolitica* une réduction bactérienne de 3,74 log₁₀ était obtenue, cette efficacité étant supérieure à celle du chlore. Ce type de résultat repose la question des choix méthodologiques.

Dans le cas du **carbonate de sodium**, produit de lavage pour la désinfection des œufs, une étude a comparé son utilisation à un produit à base d'ammonium quaternaire (pH 7,5) et à de l'hypochlorite de sodium (100 ppm, pH 7,5) (Wang et Slavik, 1998). Les données de microscopie électronique ont démontré dans les trois cas des œufs microbiologiquement propres mais une altération forte de la surface des œufs avec le carbonate de sodium favorisant une plus forte pénétration bactérienne. De leur côté, Adler et Damassa (1979) ont testé un mélange de « 250 mg/L ammonium quaternaire + 100 mg/L de carbonate de sodium + 10 ou 100 mg/L EDTA » sur diverses bactéries à Gram négatif, démontrant l'apport du carbonate de sodium dans l'activité de l'ammonium quaternaire, sans effet toxique pour les embryons.

Enfin, citons les études évaluant le système **produit catalysé par la peroxydase**. Cette réaction consiste en la production d'iode radicalaire par action de la peroxydase sur des ions iodures en présence de faibles concentrations de peroxyde. Deux études de Kuo et al. (1996, 1997) peuvent être signalées. Utilisant dans les deux cas l'application par trempage, la première a mis en évidence sur les œufs artificiellement contaminés par *Salmonella Typhimurium* ou sur la flore naturelle aérobie une réduction de 3 à 4 log₁₀ pour un temps de

contact d'une minute ou 30 secondes respectivement. Cette réduction est démontrée équivalente à un traitement au formaldéhyde par fumigation, cela sans affecter l'éclosabilité et la mortalité embryonnaire. Dans la seconde étude, sur cette même salmonelle, des réductions bactériennes similaires ont été obtenues sans qu'il y ait de différence statistiquement significative avec un traitement au chlore actif à 200 mg/L. Cette efficacité a été confirmée sur d'autres espèces bactériennes (*Salmonella Choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) par Kwon et al. (1997).

Le glutaraldéhyde seul a été peu étudié. Par application en trempage et à la concentration de 2%, il a démontré une bonne efficacité sans effet néfaste sur l'éclosabilité. De leur côté, les dérivés phénoliques ont présenté une efficacité insuffisante. Le phosphate trisodique à une concentration forte a donné des résultats contradictoires, cette contradiction pouvant être liée au choix de l'indicateur bactérien. Plus ponctuellement, le carbonate de sodium associé à un ammonium quaternaire et un complexant a conduit à une efficacité sur les bactéries à Gram négatif. Très peu étudié, l'iode radicalaire, produit par l'action d'une enzyme et d'un peroxyde sur un iodure, a eu un effet significatif sur une série de souches tests.

3.8. Procédés physiques : ultra-violets, lumière pulsée

De nombreux travaux utilisant des procédés physiques se sont développés notamment ces 15 dernières années ciblant la décontamination des œufs par les U.V. Déjà, en 1996, Bailey et al. dans une étude comparative avec deux produits chimiques (ozone et peroxyde d'hydrogène) ont appliqué en continu pendant trois jours une dose faible de 146 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ à la longueur d'onde optimale de 254 nm ne produisant qu'une faible réduction bactérienne par comparaison au peroxyde d'hydrogène. Favier et al. (2001) ont appliqué une intensité 10 fois plus forte avec une réduction de la flore aérobie de 1,6 \log_{10} . Toutefois, dans ces mêmes travaux, lorsque ces œufs ont été artificiellement contaminés par *Yersinia enterocolitica*, cette bactérie s'est avérée plus résistante. Chavez et al. (2002), appliquant une plus forte intensité (7 350 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$) ont réduit, suivant les conditions d'exposition des œufs, de 1 à 3 \log_{10} en 60 secondes la flore aérobie totale. Concevant un système de convoyage des œufs adapté à ce type d'exposition, Coufal et al. (2003) ont appliqué des doses d'UV de 4 000 à 14 000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ sur des œufs naturellement contaminés par une flore aérobie, ou artificiellement contaminés par *Salmonella Typhimurium* et *Escherichia coli*, avec respectivement des réductions bactériennes de 1,3 ou 4 à 5 \log_{10} . Cela confirme une fois de plus la réflexion qu'il doit y avoir sur la pertinence du choix des indicateurs biologiques et des modalités de contamination utilisés. Avec des doses plus faibles (1 500 à 2 500 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$) appliquées pendant cinq minutes, Rodriguez-Romo et Youssef (2005) ont réduit un inoculum de *Salmonella Enteritidis* de 4,3 \log_{10} . D'autres travaux (De Reu et al., 2006) ont pris en compte la salissure des œufs ; sur la flore naturelle de l'œuf, un traitement UV de 10 000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ pendant 4,7 secondes a abaissé de 1 \log_{10} la population bactérienne alors qu'en présence de salissures aucune réduction significative n'a été observée. En revanche, sur des œufs propres contaminés par *Escherichia coli* la réduction a pu atteindre jusqu'à 3 à 4 \log_{10} pour un temps de traitement de 4,7 à 18,8 secondes.

Plus récemment, des travaux se sont développés au moyen d'un nouveau procédé dit de « **lumière pulsée** ». Visant le traitement des surfaces, ce procédé consiste en l'application de flashes répétés de lumière de grande intensité incluant les longueurs d'onde UV. Dans les travaux de Keklik et al. (2010), des œufs ont été contaminés par *Salmonella Enteritidis* puis traités pendant une à 30 secondes à une distance de 9,5 à 14,5 cm dans une chambre. Un maximum de réduction de 5,3 \log_{10} a été obtenu en 20 secondes et à 9,5 cm pour une dose d'énergie totale 23,6 J/cm^2 . Ce traitement a produit une augmentation de la température de la surface de l'œuf de 13 à 16°C sans affecter la qualité des œufs à consommer. Hierro et al. (2009), en appliquant une énergie plus faible (12 J/cm^2), ont observé des niveaux de

performances différents selon l'intégrité de la cuticule : sans lavage préalable des œufs, 24% à 80% des œufs ont atteint une réduction de *Salmonella enterica* maximale de 3,6 log₁₀, alors qu'après lavage des œufs, cette réduction n'était plus que de 1,8 log₁₀. Confirmant ces résultats, Lasagabaster et al. (2011) ont appliqué une énergie de 2,1 J/cm² sur des œufs contaminés par *Salmonella enterica* produisant une augmentation mineure de température de la surface de l'œuf. Enfin, dans une autre expérimentation (Levy et al., 2009), un nombre de flashes variable (0,3 ms/flash) produisant une énergie de 1,5 à 4,5 J/cm² ont pu produire une réduction de la flore bactérienne jusqu'à 3 log₁₀. Ces dernières séries d'essais ont concerné essentiellement les œufs de consommation.

Notons que la comparaison des résultats obtenus sur l'ensemble de ces procédés est délicate car fortement dépendante de la technologie mise en œuvre.

Enfin, ce type de procédé nécessite un convoyage des œufs adapté à la nature de cette exposition.

Les rayonnements ultra-violets ont fait l'objet d'assez nombreux travaux au cours de ces 15 à 20 dernières années au moyen de divers procédés, en notant qu'au cours de ces cinq dernières années les procédés dits de « lumière pulsée » se sont développés. Suivant les travaux, des énergies allant de 1 500 à 14 000 μW/cm² ont été appliquées. Il a été observé que cette efficacité était dépendante du niveau de souillures, de la distance à la source et du couple temps d'exposition-énergie. Aussi, pour que la surface des œufs soit bien traitée, un système de convoyage particulier doit être mis en œuvre.

3.9. Bilan de l'analyse bibliographique

Au bilan de cette analyse bibliographique, le premier constat est que de nombreuses études ont été faites depuis plus de cinquante ans et que, potentiellement, des alternatives au formaldéhyde existent pour le traitement des œufs à couvrir (cf. tableau 3 ci-après).

Cependant, les éléments contenus dans ce tableau sont à considérer avec la plus grande prudence, car ces données sont issues d'études aux modalités très diverses, donc non directement comparables.

Dans une démarche de recherche et de mise en œuvre d'alternatives au formaldéhyde, l'attention doit être attirée sur plusieurs points :

- la définition des critères d'efficacité. Cette notion d'efficacité doit être complétée par la toxicité et, en priorité, les effets néfastes sur le taux d'éclosion, la toxicité embryonnaire et le démarrage des poussins ;
- la prise en compte de l'effet des produits et procédés sur la santé des travailleurs, d'une part, et des consommateurs d'autre part (dans l'éventualité d'une réorientation des œufs en casserie) ;
- la nécessaire analyse critique des méthodes employées en appui de la démonstration du niveau de performance des produits et procédés ;
- la prise en compte de l'applicabilité sur le site de ponte, des produits et procédés qui seront choisis ;
- la cohérence entre ces choix qui peuvent être proposés et la réglementation s'appliquant aujourd'hui à la mise sur le marché de produits/procédés permettant la désinfection des œufs à couvrir ;

Tableau 3 : Synthèse bibliographique relative aux alternatives au formaldéhyde pour la désinfection des œufs à couver.
(Dernière colonne issue des données du Règlement [CE] n°1272/2008)

Nota : Le tableau ci-dessous est une synthèse des études recensées dans la bibliographie et ne fait apparaître que les substances actives (sans référence à certaines formulations associant plusieurs substances et susceptibles d'en améliorer les performances tout en pouvant en diminuer les effets indésirables). Il convient de rappeler que les résultats sont liés aux produits, dosages et modes d'application propres à chaque étude et ne peuvent donc pas être généralisables. En outre, les activités bactéricides dépendent des modalités expérimentales, différentes d'une étude à une autre. Ainsi, la valeur d'activité imputée dans le tableau est une estimation, correspondant à une moyenne des résultats fournis par les études portant sur les mêmes produits.

Produits ^{a)}	Doses d'emploi	Mode d'application	Activité ^{b)}	Effet défavorable sur les œufs et les poussins ^{c)}	Classification CLP ^{d)}
Produit de comparaison : Formaldéhyde	4 à 10g/m ³	Nébulisation et gaz	++	+ ^{e)}	Susceptible de provoquer le cancer (Cancérogénicité, catégorie 2) Toxique par inhalation, par contact cutané et par ingestion (Toxicité aiguë par inhalation, par voie cutanée et par voie orale, catégorie 3) Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves (Corrosion/irritation cutanée, catégorie 1B) Peut provoquer une allergie cutanée (Sensibilisation cutanée, catégorie 1)
Peroxyde d'hydrogène	1,5% à 10%	Nébulisation, Trempage	++	0	Nocif par inhalation et par ingestion (Toxicité aiguë par inhalation et par voie orale, catégorie 4) Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves (Corrosion/irritation cutanée, catégorie 1A)
Produits chlorés	100 à 200 mg/L 15 mg/L (pH 6-6,5)	Trempage Pulvérisation	++	0	<u>Hypochlorite de soude^{g)}</u> Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves (Corrosion/irritation cutanée, catégorie 1B) <u>Dichloroisocyanurate de sodium^{g)}</u> Nocif en cas d'ingestion (Toxicité aiguë par voie orale, catégorie 4) Provoque une sévère irritation des yeux (Lésions oculaires graves/irritation oculaire, catégorie 2) Peut irriter les voies respiratoires (Toxicité spécifique pour certains organes cibles - Exposition unique, catégorie 3 : Irritation des voies respiratoires)

Produits^{a)}	Doses d'emploi	Mode d'application	Activité^{b)}	Effet défavorable sur les œufs et les poussins^{c)}	Classification CLP^{d)}
Produit de comparaison : Formaldéhyde	4 à 10g/m ³	Nébulisation et gaz	++	+ ^{e)}	Susceptible de provoquer le cancer (Cancérogénicité, catégorie 2) Toxique par inhalation, par contact cutané et par ingestion (Toxicité aiguë par inhalation, par voie cutanée et par voie orale, catégorie 3) Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves (Corrosion/irritation cutanée, catégorie 1B) Peut provoquer une allergie cutanée (Sensibilisation cutanée, catégorie 1)
Produits iodés	50- 200 mg/L (iode)	Trempage,	+/-	+	<u>Iode</u> Nocif par inhalation et par contact cutané (Toxicité aiguë par inhalation et par voie cutanée, catégorie 4)
	4% (chlorure d'iode)	Pulvérisation	+	ND ^{d)}	Certains composés iodophores sont classés pour leurs effets corrosifs, irritants et/ou allergisants cutanés et/ou oculaires
Ozone	3%	Trempage	+	+	Absence de classification
	0,2 à 0,4 mg/dm ³	Gaz	+/-	0	
	1%	Gaz	+	0	
Dioxyde de chlore	100 mg/L	Trempage, Mousse	+	0 (temps contact <5min)	Mortel par inhalation (Toxicité aiguë par inhalation, catégorie 2) Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves (Corrosion/irritation cutanée, catégorie 1B)
Ammoniums quaternaires	200 à 250 mg/L	Trempage	+/-	0	Absence de classification

Produits^{a)}	Doses d'emploi	Mode d'application	Activité^{b)}	Effet défavorable sur les œufs et les poussins^{c)}	Classification CLP^{f)}
Produit de comparaison : Formaldéhyde	4 à 10g/m ³	Nébulisation et gaz	++	+ ^{e)}	Susceptible de provoquer le cancer (Cancérogénicité, catégorie 2) Toxique par inhalation, par contact cutané et par ingestion (Toxicité aiguë par inhalation, par voie cutanée et par voie orale, catégorie 3) Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves (Corrosion /irritation cutanée, catégorie 1B) Peut provoquer une allergie cutanée (Sensibilisation cutanée, catégorie 1)
Produits phénoliques	800 à 10 000 mg/L	Pulvérisation, Trempage	+/-	0	<u>o-phénylphénol^{h)}</u> Provoque une sévère irritation des yeux (Lésions oculaires graves/irritation oculaire, catégorie 2) Peut irriter les voies respiratoires (Toxicité spécifique pour certains organes cibles – Exposition unique, catégorie 3 : Irritation des voies respiratoires) Provoque une irritation cutanée (Corrosion/irritation cutanée, catégorie 2) <u>Chlorométhylphénol^{h)}</u> Nocif par contact cutané et en cas d'ingestion (Toxicité aiguë par voie cutanée et par voie orale, catégorie 4) Provoque des lésions oculaires graves (Lésions oculaires graves/irritation oculaire, catégorie 1) Peut provoquer une allergie cutanée (Sensibilisation cutanée, catégorie 1)
Glutaraldéhyde	2%	Trempage	+	0	Toxique par inhalation et ingestion (Toxicité aiguë par inhalation et par voie orale, catégorie 3) Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves (Corrosion /irritation cutanée, catégorie 1B) Peut provoquer une allergie cutanée (Sensibilisation cutanée, catégorie 1) Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation (Sensibilisation respiratoire, catégorie 1)
Ultra-violets	1 500 à 14 000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ Lumière pulsée d'énergie totale : 1,5 à 23,6 J/cm ²	Effet dépendant de la distance et du temps d'exposition	+	ND ND ^{d)}	Absence de classification

- a) *Résultats d'études valables pour la qualité des produits et procédés testés, non extrapolables à d'autres produits ou procédés.*
- b) *Activités bactéricides dépendant des méthodes employées, différentes d'une étude à une autre.*
- c) *Par effet, il faut comprendre l'effet sur le taux d'éclosion ou/et la mortalité embryonnaire ou/et le développement du poussin.*
- d) *ND : non déterminé*
- e) *Mortalité embryonnaire lorsque la substance est appliquée durant les neuf premiers jours d'incubation*
- f) *Classification réglementaire selon l'annexe VI du Règlement (CE) n° 1272/2008 du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges (nouveau Règlement CLP, pour Classification, Labelling and Packaging). Seules les mentions relatives aux dangers pour la santé sont ici rapportées.*
- g) *Produits chlorés classés parmi ceux cités dans la partie 5.3.2. (Ordre de présentation indépendant de leur mode d'utilisation présenté dans les colonnes de gauche)*
- h) *Produits phénoliques classés parmi ceux cités dans la partie 5.3.7. (Ordre de présentation indépendant de leur mode d'utilisation présenté dans les colonnes de gauche)*

4. Conclusions du Comité d'experts spécialisé « Santé animale »

En France comme ailleurs en Europe, le formaldéhyde est encore assez couramment utilisé pour la désinfection des œufs à couver.

Compte tenu de la réglementation relative à la protection des travailleurs qui, d'une part en France, assimile le formaldéhyde à un produit cancérigène de « catégorie 1A » et qui, d'autre part au niveau européen, restreint très fortement l'utilisation de ce type de substance, l'arrêt de l'usage du formaldéhyde et sa substitution s'imposent de façon générale et en particulier dans la désinfection des œufs à couver. Une démarche en cascade, de substitution du formaldéhyde ou à défaut de protection des travailleurs, doit donc être généralisée dans les différents ateliers, et en particulier dans les élevages et couvoirs pour assurer la désinfection des œufs à couver telle qu'exigée notamment par la Charte sanitaire salmonelles.

La question se pose encore toutefois de la définition de la catégorie réglementaire d'appartenance des produits pouvant être utilisés pour désinfecter les œufs, en l'absence, d'une part, d'une définition européenne de la désinfection des œufs et, d'autre part, d'indication sur la manière dont l'œuf doit être considéré (oiseau à un stade de développement précoce, surface « inerte » ou autre...). Ainsi, les modalités de désinfection des œufs ne sont pas harmonisées en Europe.

Le Comité d'experts spécialisé « Santé animale » constate que plusieurs produits et procédés chimiques ou physiques utilisés à la place du formaldéhyde existent pour la désinfection des œufs à couver, dont l'efficacité comparée a été étudiée dans différentes publications. Les experts attirent cependant l'attention de la DGAL sur les conditions très variables de réalisation de ces études, ce qui invite à interpréter les résultats avec la plus grande prudence.

Compte tenu des réserves énoncées, le Comité d'experts spécialisé « Santé animale » n'est pas en mesure de répondre précisément, aujourd'hui, à la question posée dans la saisine, c'est-à-dire de proposer des protocoles alternatifs pour la désinfection des œufs sur le site de ponte. Il souligne cependant que :

- l'analyse bibliographique présentée dans ce rapport conduit à des conclusions encourageantes quant à l'offre d'alternatives ;*
- des études comparatives, comme celles récemment conduites en France par Puterflam et al., montrent que certains biocides, entre autres des produits chlorés, pourraient permettre d'atteindre une efficacité proche de celle du formaldéhyde.*

Pour une nécessaire validation des résultats disponibles, le Comité d'experts spécialisé « Santé animale » recommande donc que les produits et procédés alternatifs au formaldéhyde soient étudiés de manière standardisée (en termes de contamination des œufs à couver, de mode d'application du produit, etc.) et en prenant en compte :

- la maîtrise et le contrôle des microorganismes dont les salmonelles,*
- la toxicité du produit ou du procédé pour le travailleur et son impact environnemental,*
- l'effet du produit ou du procédé sur l'éclosabilité, le démarrage du poussin,*
- l'applicabilité pratique du produit ou procédé dans les établissements, non seulement les couvoirs, mais également les sites de ponte.*

Le Comité d'experts spécialisé « Santé animale » recommande en outre :

- *De mettre en place ces procédés dans un délai de cinq à dix ans, dès lors qu'ils sont reconnus comme moins toxiques que le formaldéhyde pour les travailleurs ;*
- *De mettre en place des mesures de protection des travailleurs quand la désinfection par le formaldéhyde est maintenue (exemple des armoires à fumigation) ;*
- *De privilégier autant que possible les produits ou procédés les plus sûrs pour le consommateur, en cas de déclassement des œufs à couver et leur orientation vers les casseries.*
- *De clarifier la réglementation relative aux produits permettant la désinfection des œufs à couver afin de lever l'interrogation sur leur statut réglementaire ;*
- *En cas de suppression de l'obligation d'une double désinfection dans la charte sanitaire salmonelles (cf. première partie de la saisine, avis en date du 23 février 2012), de surveiller, quel que soit le produit ou le procédé utilisé, les conséquences éventuelles, en termes notamment de qualité des poussins d'un jour. »*

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Tels sont les éléments d'analyse que l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail est en mesure de fournir en réponse à la deuxième partie de la saisine de la Direction générale de l'alimentation sur une demande de proposition de protocoles alternatifs au formaldéhyde, pour la désinfection des œufs sur le site de ponte, permettant de garantir une bonne efficacité contre les salmonelles dans le respect de la réglementation des produits.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Charte sanitaire, salmonelles, désinfection, formaldéhyde

BIBLIOGRAPHIE

- Adler HE, Damassa AJ (1979). Studies on egg disinfection. *Poultry Science*, 58, 799-806.
- Arhiembuwa FE, Adler HE, Wiggins AD (1980). A method of surveillance for bacteria on the shell of turkey eggs. *Poultry Science*, 59, 28-33.
- Bailey JS, Buhr RJ, Cox NA, Berrang ME (1996). Effect of hatching cabinet sanitation treatments on *Salmonella* cross-contamination and hatchability of broiler eggs. *Poultry Science*, 75, 191-196.
- Bialka KL, Demerci A, Knabel SJ, Patterson PH, Puri VM (2004). Efficacy of electrolyzed oxidizing water for the microbial safety and quality of eggs. *Poultry Science*, 83, 2071-2078.
- Brake J, Sheldon BW (1990). Effect of quaternary ammonium sanitizer for hatching eggs on their contamination, permeability, water loss and hatchability. *Poultry science*, 69, 517-525.
- Braun PG, Fernandez N, Fuhrmann N (2011). Investigations on the effect of ozone as a disinfectant of egg surfaces. *Ozone : Science and Engineering*, 33, 374-378.
- Cadirci S (2009). Disinfection of hatching eggs by formaldehyde fumigation – a review. *Archiv für Geflügelkunde*, 73, 116-123.
- Cao W, Zhu Z, Zhang Y, Shi Z, Li B (2008). Bactericidal efficiency of electrolyzed oxidizing water for *Salmonella pullorum* and contaminated eggs. American Society of Agricultural and biological engineers, Central theme, technology for all: sharing the knowledge for development. Proceedings of the International Conference of Agricultural Engineering, XXXVII Brazilian Congress of Agricultural Engineering, International Livestock Environment Symposium - ILES VIII, Iguassu Falls City, Brazil, 31st August-4th September, 2008, 1097-1102.
- Chavez C, Knape KD, Coufal CD, Carey JB (2002). Reduction of eggshell aerobic plate counts by ultraviolet irradiation. *Poultry Science*, 81, 1132-1135.
- Coufal CD, Chavez C, Knape KD, Carey JB (2003). Evaluation of a method of ultraviolet light sanitation of broiler hatching eggs. *Poultry Science*, 82, 754-759.
- Cox NA, Berrang ME, Buhr RJ, Bailey JS (1999). Bactericidal treatment of hatching eggs II. Use of chemical disinfectants with vacuum to reduce *Salmonella*. *The Journal of Applied Poultry Research*, 8, 321-326.

- De Reu K, Grijspeerdt K, Herman L, Heyndrickxx M, Uyttendaele M, Debevere J, Putirulan FF, Bolder NM (2006). The effect of a commercial UV disinfection system on the bacterial load of shell eggs. *Letters in Applied Microbiology*, 46, 144-148.
- Ernst RA, Schroeder JP, Prost RE (1974). Field studies to evaluate commercial disinfectants for turkey hatching egg sanitation. *Poultry Science*, 53, 149-156.
- Fasenko GM, O'Dea Christopher EE, McMullen LM (2009). Spraying hatching eggs with electrolyzed oxidizing water reduces eggshell microbial load without compromising broiler production parameters. *Poultry Science*, 88, 1121-1127.
- Favier GL, Escudero ME de Guzman AM (2001). Effect of chlorine, sodium chloride, trisodium phosphate, and ultraviolet radiation on the reduction of *Yersinia enterocolitica* and mesophilic aerobic bacteria from eggshell surface. *Journal of Food Protection*, 64, 1621-1623.
- Hierro E, Manzano S, Ordonez JA, de la Hoz L, Fernandez M (2009). Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on shell eggs by pulsed light technology. *International Journal of Food Microbiology*, 135, 125-130.
- Himathongkham S, Riemann H, Ernst R (1999). Efficacy of disinfection of shell eggs externally contaminated with *Salmonella* Enteritidis - Implications for egg testing. *International Journal of Food Microbiology*, 49, 161-167.
- Keklik NM, Demerci A, Patterson PH, Puri VM (2010). Pulsed UV light inactivation of *Salmonella* Enteritidis on eggshells and its effect on egg quality. *Journal of Food Protection*, 73, 1408-1415.
- Kuo FL, Carey JB, Ricke SC, Ha SD (1996). Peroxidase catalysed chemical dip, egg shell surface contamination and hatching. *The Journal of Applied Poultry Research*, 5, 6-13.
- Kuo FL, Kwon YM, Carey JB, Hargis BM, Krieg DP, Ricke SC (1997). Reduction of *Salmonella* contamination on chicken egg shells by a peroxydase-catalysed sanitizer. *Journal of Food Science*, 62, 873-875.
- Kwon YM, Kreig DP, Kuo FL, Carey JB, Ricke SC (1997). Biocidal activity of a peroxidase-catalysed sanitizer against selected bacteria on inert carriers and egg shells. *Journal of Food Safety*, 16, 243-254.
- Lasagabaster A, Arboleya JC, Martinez de Maranon I (2011). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12, 124-128.
- Levy C, Gatt G, Busnel M, Chemaly M, Coignard M, Valette MA (2009). Décontamination des œufs coquilles par le procédé de lumière pulsée. VIIIème Journées de la Recherche Avicole, St Malo, France, les 25 et 26 mars 2009, pp 424-428.
- Mandl J, Hafez HM, Woernle H, Kösters J (1987). Efficiency of different methods to disinfect *Salmonella* contaminated hatching eggs. *Archiv für geflügelkunde*, 51, 16-21.
- Maris P (1986). Efficacité de désinfectants sur la contamination des œufs. *Annales de Recherches Vétérinaire*, 17, 123-126.
- Musgrove MT, Cox NA, Berrang ME, Buhr RJ, Richardson LJ, Mauldin JM (2010). Effect of inoculation and application methods on the performance of chemicals used to disinfect

Salmonella-contaminated broiler hatching eggs. *The Journal of Applied Poultry Research*, 19, 387-392.

Neighbor NK, Newberry LA, Bayyari GR, Skeeles JK, Beasley JN, McNew RW (1994). The effect of microaerosolized hydrogen peroxide on bacterial and viral poultry pathogens. *Poultry Science*, 73, 1511-1516.

Padron M (1995). Egg dipping in hydrogen peroxide solution to eliminate *Salmonella* Typhimurium from eggshell membranes. *Avian diseases*, 39, 627-630.

Patterson PH, Ricke SC, Sunde ML, Schaefer DM (1990). Hatching eggs sanitized with chlorine dioxide foam: egg hatchability and bactericidal properties. *Avian Diseases*, 34, 1-6.

Puterflam J, Travel A, Besnard J, Maris P (2011a). Recherche expérimentale de composés alternatifs au formaldéhyde pour la désinfection des œufs à couver de *Gallus Gallus*. Neuvièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, France, 29 et 30 mars 2011, pp 737-741.

Puterflam J, Travel A, Léorat J, Damien M, Maris P (2011b). Recherche terrain de composés alternatifs au formaldéhyde pour la désinfection des œufs à couver de *Gallus Gallus*. Neuvièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 29 et 30 mars 2011, pp 644-648.

Rizk SS, Ayres JC, Kraft AA (1966). Disinfection of eggs artificially inoculated with *Salmonellae*- 1. Application of several disinfectants. *Poultry Science*, 45, 764-769.

Rodriguez-Romo LA, Youssef AE (2005). Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on shell eggs by ozone and UV radiation. *Journal of Food Protection*, 68, 711-717.

Sander JE, Wilson JL (1999). Effect of hydrogen peroxide disinfection during incubation of chicken eggs on microbial levels and productivity. *Avian Diseases*, 43, 227-233.

Scott TA, Swetnam C (1993a). Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs II. Effectiveness against microorganisms on the egg shell. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2, 7-11.

Scott TA, Swetnam C, Kinsman R (1993b). Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs III. Effect of concentration and exposure time on embryo viability. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2, 12-18.

Sheldon BW, Brake J (1991). Hydrogen peroxide as an alternative hatching egg disinfectant. *Poultry Science*, 70, 1092-1098.

Spickler JL, Buhr RJ, Cox Jr NA, Bourassa DV, Rigsby LL (2011). Comparison between rinse and crush-and-rub sampling for aerobic bacteria recovery from broiler hatching eggs after sanitization. *Poultry Science*, 90, 1609-1615.

Tchentchev I, Guenov I, Mitkova I (1968). Sur la désinfection des oeufs et des surfaces planes des poulaillers contaminés par *Pasteurella avicida* ou par *Salmonella pullorum*. *Bulletin de l'Office international des épizooties*, 70, 707-711.

Wang H, Slavik MF (1998). Bacterial penetration into eggs washed with various chemicals and stored at different temperatures and times. *Journal of Food Protection*, 61, 276-279.

Wells JB, Coufal CD, Parker HM, McDaniel CD (2010). Disinfection of eggshells using ultraviolet light and hydrogen peroxide independently and in combination. *Poultry Science*, 89, 2499-2505.

Wells JB, Coufal CD, Parker HM, Kiess AS, Purswell JL, Young KM, McDaniel CD (2011). Hatchability of broiler breeder eggs following eggshell sanitization by repeated treatment with a combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide. *International Journal of Poultry Science*, 10, 421-425.

Whistler PE, Sheldon BW (1989). Biocidal activity of ozone versus formaldehyde against poultry pathogens inoculated in a prototype setter. *Poultry Science*, 68, 1068-1073.

Whistler PE, Sheldon BW (1989a). Bactericidal activity, egg shell conduction and hatchability effects of ozone versus formaldehyde disinfection. *Poultry Science*, 68, 1074-1077.

Whistler PE, Sheldon BW (1989b). Comparison of ozone and formaldehyde as poultry hatchery disinfectants. *Poultry Science*, 68, 1345-1350.

Références réglementaires nationales

Arrêté du 13 juillet 2006 modifiant l'arrêté du 5 janvier 1993 fixant la liste des substances, préparations et procédés cancérigènes au sens du deuxième alinéa de l'article R. 231-56 du code du travail. NOR: SOCT0611483A. JORF n°174 d u 29 juillet 2006 page 11304, texte n°12

Références réglementaires communautaires

Directive (CE) 98/8 du Parlement européen et du Conseil, du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides

Directive (CE) 2004/37 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents cancérigènes ou mutagènes au travail (sixième directive particulière au sens de l'article 16, paragraphe 1, de la directive 89/391/CEE du Conseil)

Règlement (CE) n°1451/2007 de la Commission du 4 décembre 2007 concernant la seconde phase du programme de travail de dix ans visé à l'article 16, paragraphe 2, de la directive 98/8/CE du Parlement européen et du Conseil concernant la mise sur le marché des produits biocides

Règlement (CE) n° 1272/2008 du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges (Annexe VI)