

CONTRÔLE DE LA CONTAMINATION PAR SALMONELLA DES BÂTIMENTS D'ÉLEVAGE DE VOLAILLES APRÈS NETTOYAGE-DÉSINFECTION

F. HUMBERT, F. LALANDE et P. COLIN

CNEVA-LCRAP Unité Hygiène et Qualité des Produits - BP 53 - 22440 PLOUFRAGAN

Malgré l'utilisation de techniques bactériologiques appropriées (phase de pré-enrichissement systématique) pour la recherche des salmonelles dans l'environnement, certaines bactéries particulièrement "stressées" restent non cultivables sur nos milieux de laboratoire. Il a été démontré que les salmonelles que l'on trouve d'un lot d'animaux sur l'autre dans un même bâtiment constituaient une source d'infection potentielle alors même que les animaux livrés étaient sains et que les contrôles de nettoyage désinfection paraissaient négatifs ⁽¹⁾.

Le poussin de 1 jour constitue dans ce cas un révélateur d'une contamination du bâtiment qui aurait pu échapper aux techniques d'investigation habituelles.

L'étude a donc deux objectifs :

- bactériologique : il s'agit de comparer sur les mêmes prélèvements, deux techniques de recherche des salmonelles. L'une d'elle comporte un milieu de pré-enrichissement classique (eau peptonée tamponnée), l'autre utilise le même milieu additionné d'un neutralisant de désinfectants ;
- épidémiologique : il s'agit de mettre en évidence les principales niches écologiques des salmonelles dans des élevages de volailles (y compris leurs abords) après nettoyage-désinfection, mais avant mise en place du lot suivant.

I MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. élevage

12 élevages reconnus contaminés en salmonelles lors de l'examen des animaux du lot précédant ont participé à l'étude.

2. prélèvements

Pour chaque élevage, 10 prélèvements ont été réalisés et numérotés comme indiqué ci-dessous :

- 1.** Eau des fossés à proximité du bâtiment.
- 2.** Eau de boisson prélevée dans les abreuvoirs ou quand ceux-ci n'étaient pas encore remplis, dans le bac de distribution.
- 3.** Poignée de terre prélevée à l'extérieur du bâtiment sur le passage menant aux deux entrées principales.

4. Poignée de terre prélevée à l'extérieur du bâtiment au niveau des portes et des quais d'embarquement latéraux.

5. Poignée de paille prélevée dans deux à quatre points particulièrement humides à l'intérieur du bâtiment.

6. Chiffonnette frottée pour écouillonner diverses surfaces du magasin.

7. Chiffonnette frottée sur les parpaings, dans le bas des murs.

8. Chiffonnette frottée sur les quatre angles du bâtiment.

9. Chiffonnette frottée sur les systèmes d'aération haute du bâtiment.

10. Idem 9, à un autre endroit.

3. techniques bactériologiques

Chaque échantillon est divisé en deux parties égales après homogénéisation. L'une est pré-enrichie avec adjonction d'un mélange permettant de neutraliser la plupart des désinfectants utilisés en élevage (tableau 1), à raison du 1/10 du volume d'eau peptonée tamponnée. L'autre est également pré-enrichie en eau peptonée tamponnée, mais sans neutralisant. Les prélèvements sont placés en incubation 18 à 24 h à 37 °C et chaque moitié est ensuite traitée selon les méthodes classiques permettant l'isolement des salmonelles. Deux milieux d'enrichissement ont été utilisés : 20 ml de tétrathionate de Muller Kauffman (AES Réf. 140 702) additionnés extemporanément de 0,4 ml d'une solution iodo-iodurée (Iode 200 g, Iodure de potassium 250 g, eau distil-

lée 1 l), 0,2 ml d'une solution de Vert Brillant (Vert Brillant 100 mg, eau distillée 100 ml) et 0,1 ml d'une solution de Novobiocine à 0,8 % (Sigma Réf. N1628) dans de l'eau physiologique stérile, sont inoculés par 2 ml des pré-enrichissements précédents. De même, 20 ml de milieu de Rappaport Vassiliadis (Merck Réf. 7 700) sont inoculés par 0,2 ml de ces mêmes pré-enrichissements.

L'incubation des milieux d'enrichissement est de 24 h à 41 °C ($\pm 0,5$ °C). L'isolement sélectif utilise une gélose lactosée et saccharosée au vert brillant et rouge de phénol modifiée (AES Réf. 154 492). Les colonies suspectes sont identifiées biochimiquement et sérologiquement afin de confirmer ou non la présence de salmonelles dans l'échantillon.

Tableau 1 :
COMPOSITION DU MÉLANGE NEUTRALISANT LES PRINCIPAUX DÉSINFECTANTS ⁽²⁾

Composition		Désinfectants neutralisés	
Lécithine d'œuf	3 g	→	Ammoniums quaternaires
Tween 80	30 g	→	Ethanol
L. Histidine	1 g	→	Aldéhydes
Thiosulfate de sodium (Na ₂ S ₂ O ₃)	5 g	→	Halogènes
Disodium phosphate (Na ₂ HPO ₄ · 12 H ₂ O)	100,8 g	→	Phénol
Eau distillée	qsp 1 000 ml		

Tableau 2 :
NOMBRE DE RÉSULTATS POSITIFS, POUR CHACUN DES TYPES D'ÉCHANTILLONS ANALYSÉS, ET POUR CHACUNE DES MÉTHODES DE RECHERCHE UTILISÉES

Prélèvement	Pré-enrichissement sans neutralisant Enrichissement		Pré-enrichissement avec neutralisants Enrichissement		Différence avec/sans neutralisant Enrichissement	
	en TT	en RV	en TT	en RV	TT	RV
1. Eau des fossés	2	2	3	3	+ 1	+ 1
2. Eau de boisson	0	0	0	0	0	0
3. Terre des abords	3	4	3	6	0	+ 2
4. Terre des abords	1	3	2	3	+ 1	0
5. Paille	0	0	0	0	0	0
6. Magasin	0	2	1	2	+ 1	0
7. Murs bâtiment	1	2	3	2	+ 2	0
8. Angles bâtiment	2	5	2	5	0	0
9. Ventilation 1	1	1	1	1	0	0
10. Ventilation 2	2	2	2	2	0	0
TOTAL	12	21	17	24	+ 5	+ 3

II RÉSULTATS - DISCUSSION

Seuls les résultats positifs sont présentés dans le tableau 2.

1. du point de vue épidémiologique

Sur les 12 élevages visités, 5 n'ont pas permis la mise en évidence de salmonelles. Parmi les 7 autres élevages, les prélèvements toujours négatifs sont la paille fraîche et l'eau distribuée aux animaux. Ces supports ne semblent pas constituer un "réservoir" de salmonelles, ou bien la contamination est trop faible pour qu'elle apparaisse avec un prélèvement de taille réduite par rapport aux quantités d'eau et de paille utilisées dans l'ensemble de l'élevage.

Par contre et bien qu'il soit difficile de généraliser avec le nombre d'échantillons analysés, il semble que les abords (prélèvements 1, 3 et 4) et les systèmes d'aération (prélèvements 9 et 10) restent des endroits mal nettoyés et dont la propreté macroscopique est souvent douteuse (présence de fientes et de fumiers à l'extérieur du bâtiment et de grandes quantités de poussière dans les systèmes d'aération). Enfin, les parpaings qui constituent le bas des murs, même s'ils apparaissent plus propres, restent de redoutables nids à salmonelles (prélèvements 7 et 8). Leur structure anfractueuse rend difficile voire impossible une désinfection efficace.

2. du point de vue bactériologique

Les résultats analysables statistiquement dans les tableau 2 sont ceux, et seulement ceux, ayant donné des résultats différents selon la technique bactériologique utilisée (avec ou sans neutralisant). Dans le cas de l'utilisation du Tetrathionate (TT), 5 prélèvements ont donné un résultat négatif sans neutralisant, mais positif avec neutralisant ; dans le cas du Rappaport-Vassiliadis (RV), 3 prélèvements donnent ce type de résultats. Or, le test statistique des séries appariées et celui non paramétrique de Wilcoxon nécessitent respectivement 10 et 6 paires de réponses discordantes, c'est-à-dire dont les résultats avec ou sans neutralisant sont différents. Ne disposant pas de suffisamment de résultats de ce type, pour chacun des milieux d'enrichissement utilisé, on ne peut réellement analyser statistiquement les résultats mais seulement constater la tendance qui semble donner un meilleur recouvrement des salmonelles lorsqu'on utilise des neutralisants de désinfectants.

L'intérêt d'utiliser des neutralisants de désinfectant lors d'un contrôle de nettoyage-désinfection d'un élevage qui a hébergé une bande précédente porteuse de salmonelles est donc variable en fonction du type de prélèvement analysé et du milieu d'enrichissement utilisé. Mais d'une manière générale, il faut conseiller d'employer des milieux de culture additionnés de neutralisants lors de ces contrôles.

Références bibliographiques

- (1) LAHELLEC (C.) and COLIN (P.), 1985. Relationship between serotypes of Salmonellae from hatcheries and rearing forms and these from processes poultry carcasses. *British Poultry Science*, 26 : 179-186.
- (2) MARIS (P.), 1985. Efficacité des désinfectants en élevage : leur rôle et les difficultés d'évaluation de leur activité. *Revue de l'Institut Pasteur de Lyon*, 18 (3).