

ÉVALUATION DE PRATIQUES SUSCEPTIBLES DE RÉDUIRE LA CONTAMINATION DES ŒUFS À COUVER APRÈS LA PONTE

Puterflam Julie¹, Cormier Jennifer², Huneau-Salaün Adeline³

¹ ITAVI, Zoopôle Beaucemaine, 22440 PLOUFRAGAN

² HUBBARD SAS, Mauguérand, 22800 LE FOEIL

³ ANSES, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, BP 53, 22440 PLOUFRAGAN

RESUME

Au cours du refroidissement qui suit la ponte des œufs, leur coquille est perméable, ce qui les rend vulnérables à la pénétration de micro-organismes potentiellement pathogènes susceptibles de menacer le développement embryonnaire et plus tard la santé des poussins. Ce risque est conditionné par la présence de microorganismes sur la coquille, elle-même liée au temps écoulé entre la ponte et le ramassage, ainsi que par les conditions de stockage des œufs. Pour le maillon multiplication-accoupage, la désinfection des œufs à couver (OAC), qui permet d'éliminer les microorganismes de surface, constitue un moyen de prévention efficace pour limiter le risque de contamination. Toutefois, il est à noter que sa réalisation intervient plusieurs heures après la ponte, pendant lesquelles le risque de prolifération bactérienne de coquille reste possible. C'est pourquoi il est important de réduire la pression de contamination ambiante des OAC après la ponte et avant introduction dans le process d'accoupage, de façon sécuriser le produit fini. Dans ce contexte, l'Unité Mixte de Technologie (UMT) Sanivol, en partenariat avec la société Hubbard, a mis en place une série d'essais visant à évaluer différentes pratiques pour réduire la contamination des OAC avant désinfection, tels que l'hygiénisation de l'ambiance de ponte ou l'écartement des œufs de la salle d'élevage après la ponte. Les résultats ont montré que cet écartement permettait de diminuer de façon significative les contaminations bactériennes extra- et intra-coquillières des OAC.

ABSTRACT

Alternatives to formaldehyde compounds for hygiene of Gallus gallus hatching eggs

During cooling of freshly laid eggs, the porosity of the eggshell might favor environmental microorganisms to penetrate the egg. It may cause a degradation of chicks' health. This risk is conditioned by the presence of microorganisms on the shell, bound to the elapsed time between the laying and the collection, as well as by the storage conditions of eggs. For hatching process, disinfection of hatching eggs is an effectiveness way of prevention, but it is realized several hours after the laying, during which the risk of bacterial proliferation remains possible. For this reason it is important to reduce the pressure of eggs ambient contamination after the laying and before their introduction in the hatching process, in way to ensure the sanitary quality of finished product. UMT Sanivol, in collaboration with Hubbard carried out several assays to test alternative practices to reduce bacterial contamination of hatching eggs before disinfection. The use of an air disinfection system in the egg conveyor didn't lead to decrease bacterial contamination on egg surface. Quick isolation of freshly laid eggs from the rearing area led to a significant decrease of outer- and inner-shell bacterial contaminations.

INTRODUCTION

Les œufs à couver (OAC) sont stériles après la ponte (Mallet *et al.*, 2005). De plus, la cuticule, la coquille et les membranes coquillères constituent des barrières s'opposant à la pénétration de micro-organismes de la surface vers le contenu de l'œuf (Baron *et al.*, 2010). Toutefois, le passage des micro-organismes reste possible, du fait des pores de la coquille, et de l'altération de la cuticule dans le temps. Ainsi, certains micro-organismes issus de l'environnement d'élevage sont susceptibles de migrer dans l'œuf, la pénétration de la coquille étant essentiellement influencée par le niveau de contamination de l'œuf en surface (Messens *et al.*, 2007), lui-même lié au temps écoulé entre la ponte et le ramassage. Les conséquences peuvent être une augmentation de la mortalité embryonnaire, ou une libération au moment de l'éclosion de micro-organismes potentiellement pathogènes emprisonnés dans la cuticule lors du refroidissement (Guérin *et al.*, 2011). Pour limiter ce risque, les Arrêtés de lutte contre les infections à salmonelle dans les troupeaux de reproducteurs *Gallus gallus* et dindes (Arrêtés interministériels du 26 février 2008 modifiés) préconisent la désinfection des OAC. Toutefois, celle-ci étant réalisée plusieurs heures après la ponte, il est nécessaire de prévenir tout risque de contamination préalable en réduisant au possible la charge en micro-organisme des œufs.

De ce fait, l'UMT Sanivol, en partenariat avec la société Hubbard, a mis en place une série de tests visant à valider des pratiques susceptibles de réduire la contamination des œufs après la ponte. Il s'agit de la mise en place de méthodes ou de procédés permettant à l'œuf de refroidir dans un milieu sain afin de limiter la quantité de micro-organismes susceptibles de pénétrer à travers la coquille.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1 Origine des œufs

L'étude s'est déroulée de mai à décembre 2015 au sein d'un élevage de poules reproductrices de la filière chair logées en

bâtiment séparé en 2 parquets (40m*13m, 100m² de litière et 60m² de caillebotis) et équipé de pondeirs. Les œufs étaient collectés plusieurs fois par jour, triés (élimination des œufs sales, cassés, fêlés, déformés, poreux) et placés sur plateaux d'incubation.

1.2 Procédés testés

Deux procédés ont été étudiés : **l'hygiénisation du milieu de ponte et l'écartement des œufs de l'ambiance d'élevage après la ponte**. En ce qui concerne **l'hygiénisation du milieu de ponte**, trois modalités ont été testées.

La première est **l'utilisation de tapis de ponte perforés**, comportant des orifices permettant une meilleure ventilation, une surface de contact réduite avec les œufs, ainsi qu'un nettoyage et désinfection optimisés. Dans le bâtiment, la moitié des pondeirs était équipée de tapis non perforés et l'autre moitié de tapis perforés. De 30 à 58 semaines, 30 OAC par type de tapis ont été prélevés toutes les deux semaines. Les OAC étaient prélevés directement sur le convoyeur sans le faire tourner afin de pouvoir identifier le type de tapis sur lesquels ils avaient été pondus. Les œufs étaient placés sur des alvéoles cartons neuves.

La seconde modalité est **l'utilisation d'un nid à isolation optimisée** par rapport aux nids standards. Ce nid est conçu de façon à limiter les espaces permettant la pénétration des bio aérosols dans le convoyeur à œufs. Pour l'étude de cette modalité, 30 OAC ont été prélevés toutes les deux semaines pendant 28 semaines dans le bâtiment équipé des nids innovants, ainsi que 30 OAC dans un bâtiment similaire équipé de nids standards et pondus par des poules reproductrices d'une souche comparable et du même âge.

La troisième modalité est **l'hygiénisation de l'air ambiant dans le convoyeur à œufs**. Ce système fonctionne par aspiration et désinfection de l'air par traitement UV couplé à un système d'ionisation (traitement de 300m³ d'air en 1h). L'air est ensuite réintroduit dans le convoyeur. Ce système était mis en fonctionnement pendant deux semaines puis coupé pendant 2 semaines. Ce cycle a été répété pendant toute la durée de

production du lot d'animaux. Pour chaque journée de test, 60 OAC ont été prélevés sur la table de tri dans l'heure suivant la ponte. Au total, 17 répétitions ont été analysées.

Concernant **l'écartement des œufs de l'ambiance d'élevage après la ponte** : lors de chaque journée de test (7 au total), 21 OAC étaient stockés dans : le convoyeur à œufs sans système de désinfection (Témoin), la salle d'élevage, le convoyeur à œufs avec système de rampe de désinfection UV/ionisation, la salle de stockage du bâtiment, le sas sanitaire de l'élevage et le réfrigérateur. Les œufs y étaient stockés pendant 24 heures avant analyse.

1.3. Analyses au laboratoire

L'efficacité des procédés testés est mesurée par dénombrement de la flore aérobique mésophile totale (FAMT) de coquille à partir d'œufs poolés par 3. Chaque œuf a été frotté pendant 20 secondes dans une solution d'eau peptonée afin de décoller les bactéries présentes sur la coquille. Des dilutions successives ont été réalisées puis 1 ml de chaque solution a été déposé dans une boîte de Pétri et mélangé avec du PCA (Plate Count Agar) en surfusion à 45°C permettant un ensemencement dans la masse.

Une fois les dilutions réalisées, les OAC ont été placés dans un caisson hermétique équipé d'une lampe UV. Après 1h, les œufs ont été cassés puis les coquilles broyées et introduites par pool de 3 dans une solution d'eau peptonée. Chaque pool de coquilles a été secoué pendant 1 minute afin de récupérer toutes les bactéries présentes sur la surface interne de la coquille et sur les membranes coquillières. Un microlitre de cette solution mère a été introduit dans une boîte de Petri puis mélangé avec du PCA en surfusion à 45°C.

Après refroidissement les boîtes ont été placées pendant 72h à 30°C puis les colonies dénombrées. Les résultats sont exprimés en log d'Unité Formant Colonie par œuf (log UFC/œuf).

1.4. Prélèvements de poussières

Des prélèvements de poussières inhalables (diamètre inférieur à 10µm) ont été réalisés à

l'aide de capteurs individuels de poussières (CIP, ARELCO) dans la salle d'élevage et dans le tunnel de convoyage avec et sans activation du système de désinfection.

1.5. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été faites à l'aide du logiciel R (The R Project for Computing).

Afin de comparer les différentes modalités testées, le modèle linéaire suivant a été utilisé :

$$X = \mu + \alpha + \varepsilon$$

X = Variable analysée

μ = moyenne de X

α = effet fixe du type de tapis / du type de nid / du système de désinfection du convoyeur / du lieu de refroidissement

ε = résidus

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Hygiénisation du milieu de ponte

2.1.1. Utilisation de tapis perforés

La contamination extra-coquillière moyenne des OAC est de $8,85 \pm 0,37$ log UFC/œuf sur tapis non perforés et de $8,98 \pm 0,36$ log UFC/œuf sur tapis perforés. En ce qui concerne la contamination intra-coquillière, elle est en moyenne de $2,26 \pm 0,65$ log UFC/œuf sur tapis non perforés et de $2,46 \pm 0,41$ log UFC/œuf sur tapis perforés. Il apparaît ainsi que l'utilisation de tapis perforés dans les nids n'a pas d'impact sur la contamination extra-coquillière ($p=0,73$) ni sur la contamination intra-coquillière ($p=0,49$). Guinebretière *et al.* (2011) avaient pourtant montré que l'utilisation de tapis perforés dans les cages de poules pondeuses permettait de réduire la contamination bactérienne des œufs. Il est à noter que la contamination des œufs produits en cages est moins importante que celle des œufs produits en systèmes au sol dont l'empoussièrement est plus important (Samiullah & Chousalkar, 2014). Par conséquent, l'hypothèse peut être faite qu'au-delà d'un certain seuil de contamination ambiant, l'effet potentiellement bénéfique du revêtement (ici les tapis perforés) se trouve limité.

2.1. 2. Utilisation de nids isolés

Dans les nids traditionnels, la contamination est de $9,31 \pm 0,22$ logUFC/œuf en extra-coquillière et de $2,55 \pm 0,65$ logUFC/œuf en intra-coquillière. Dans le nid isolé elles sont respectivement de $9,33 \pm 0,35$ et $2,50 \pm 0,61$ logUFC/œuf. Le nid isolé ne permet donc pas de réduire les contaminations bactériennes sur et dans la coquille des OAC ($p = 0,99$). Toutefois les tests ayant été réalisés dans deux bâtiments différents pour des raisons méthodologiques, on peut émettre l'hypothèse que le niveau d'empoussièrement ainsi que le microbisme des lots y étaient différents, générant ainsi une charge bactérienne des œufs variable d'un bâtiment à l'autre (Mallet *et al.*, 2005) et limitant ainsi la possibilité de comparaison des deux bâtiments et par là-même l'évaluation du nid isolé.

2.1. 3 Utilisation d'un système de désinfection de l'air du convoyeur

La mise en fonctionnement du système de désinfection de l'air du convoyeur permet de réduire la contamination extra-coquillière des OAC de $8,5 \pm 0,6$ à $8,3 \pm 0,7$ log UFC/œuf ($p=0,03$), ce qui laisse à penser à un effet décontaminant, toutefois relatif car inférieur à 1 log UFC/œuf. Cependant, elle entraîne une augmentation de la contamination intra-coquillière : $2,1 \pm 0,6$ à $2,3 \pm 0,7$ log UFC/œuf ($p=0,01$). Dans le même sens, les prélèvements de poussières réalisés dans le convoyeur ont permis de montrer que la quantité de poussières inhalables est plus importante lorsque le système de désinfection est en fonctionnement : $3,1$ mg/m³ d'air vs $1,8$ mg/m³ d'air sans système de désinfection ($p = 0,04$). On peut ainsi penser que la mise en fonctionnement du système de désinfection a entraîné la création d'un flux d'air vertical dans le convoyeur, avec un effet de concentration des poussières sur la coquille des œufs. Le fait que la contamination intra-coquillière s'en trouve augmentée indique que les poussières inhalables ont pu pénétrer d'une part les pores de la coquille (passage compatible avec leur diamètre inférieur à 10 µm), mais également la cuticule et les membranes coquillères, qui constituent pourtant des filtres antibactériens efficaces (Baron *et al.*, 2010). On peut donc émettre les

hypothèses d'une part que les barrières physiques constituées par la cuticule et les membranes coquillères ont été altérées, et d'autre part que le niveau de contamination élevé de l'œuf en surface a favorisé la pénétration des bactéries dans l'œuf.

2.4. Isolement des œufs pendant leur refroidissement

Les OAC refroidissant dans la salle d'élevage présentent la contamination extra-coquillière la plus élevée (Tableau 1). Les OAC ayant la plus faible contamination extra-coquillière sont ceux qui ont refroidi dans la salle de stockage du bâtiment, le sas sanitaire de l'élevage ou au réfrigérateur. Pour ces œufs, la contamination extra-coquillière est significativement inférieure à celle des œufs refroidis en salle d'élevage. Concernant la contamination intra-coquillière, l'impact du lieu de refroidissement n'est visible que pour les œufs ayant refroidi dans le sas sanitaire ou au réfrigérateur. Notons par ailleurs que 21,4% des œufs ayant refroidi au réfrigérateur et 17,8% des œufs ayant refroidi dans le sas sanitaire sont stériles en intra-coquillière, ce qui est significativement supérieur au pourcentage obtenu dans la salle d'élevage ou dans le convoyeur avec système de désinfection en fonctionnement ($p = 0,04$) (Tableau 2). Ces résultats indiquent que le fait d'isoler les OAC de l'ambiance d'élevage rapidement après la ponte, par un stockage dans un local dédié moins chargé en bio aérosols, et préférentiellement à température contrôlée, permet de réduire la pression bactérienne environnante et de fait le risque de pénétration des micro-organismes dans les œufs.

CONCLUSION

Les résultats de cette étude indiquent que l'isolement rapide des OAC hors de l'ambiance d'élevage après la ponte permet de réduire significativement les contaminations bactériennes extra- et intra-coquillières en permettant un refroidissement dans une ambiance moins chargée en micro-organismes. Ainsi, on peut penser qu'un ramassage plus régulier des œufs permettrait d'optimiser leur hygiène et ainsi de sécuriser le processus d'accoupage. Notons que l'utilisation de robots à cet effet est actuellement en cours

d'étude et pourrait être utilisé sur le terrain si les résultats permettent d'en valider l'efficacité. Par ailleurs, afin de compléter l'étude de l'impact du lieu de refroidissement sur les contaminations bactériennes des OAC, un relevé des performances d'éclosion permettrait de s'assurer que le réfrigérateur, qui limite le risque de contamination des OAC, ne génère néanmoins pas d'impact négatif sur le développement embryonnaire. De plus, il serait intéressant de compléter les résultats avec des analyses microbiologiques permettant de caractériser les micro-organismes présents en intra et en

extra-coquillère. En effet, notons que certains micro-organismes non pathogènes peuvent contribuer à la protection de l'œuf comme flore de barrière limitant l'implantation d'une population de micro-organismes pathogènes. Concernant ce dernier type, il serait intéressant d'évaluer leur implication dans les mortalités embryonnaires et les pertes d'éclosabilité en suivant les œufs jusqu'à l'éclosion. L'amélioration de ces connaissances pourrait contribuer à orienter plus précisément les stratégies de maîtrise de la qualité sanitaire des œufs à couvrir.

Remerciements

L'UMT Sanivol tient à remercier la société Hubbard ainsi que le laboratoire d'analyses vétérinaires Trégobio pour leur collaboration à cette étude.

Références bibliographiques

- Baron, F., Jan, S. (2010). Microbiologie de l'œuf et des ovoproduits. *Inra production Animales*, 2.
- Durmus, I. (2012). Determining effects of use of various disinfecting materials on hatching results and total bacterial count. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(8), 739-744
- Guérin, J-L., Balloy, D., & Villate, D. (2011). Maladies bactériennes. *Maladies des volailles*, 311-367
- Guinebretière, M., Guillaume, G., Bignon, L0, Conan, S., Audebet, G., Huonnic, D., Huneau-Salaün, A., & Michel, V. (2011). Aménagement des cages pour poules pondeuses impacts économiques, sanitaires, zootechniques et sur le bien-être animal. *Innovations Agronomiques*, 17, 199-211
- Mallet, S., Guesedon, V., Ahmed, M. & Nys, Y. (2005). Hygiène des oeufs pondus dans deux modèles des cages aménagées. *Journées de la Recherche Avicole*, 6, 487-491.
- Messens, W., Grijspeerdt, K., De Reu, K., de Ketelaere, B., Mertens., K. Eggshell penetration of various types of ehns'eggs by salmonella enterica serovar Enteritidis. *J. Food. Prot.*, 70, 623-628.
- Samiullah, J., & Chousalkar, K. (2014). Effect of production system and flock age on egg quality and total bacteriel load in commercial laying hens. *The Journal of Applied Poultry Research*, 23 (1), 59-70

Tableau 1 : Impact du lieu de refroidissement sur les FAMT extra- et intra-coquillières des OAC

	Contamination bactérienne (logUFC/œuf)		P	
	Extra-coquillière	Intra-coquillière	Extra-coquillière	Intra-coquillière
Salle d'élevage	11,4 ± 0,3 ^a	2,9 ± 0,4 ^a	<0,001***	0,02*
Convoyeur VMC OFF	9,3 ± 0,4 ^b	2,5 ± 0,6 ^b	TEMOIN	TEMOIN
Convoyeur VMC ON	9,4 ± 0,3 ^b	2,4 ± 0,6 ^b	0,73	0,42
Salle de stockage	8,9 ± 0,4 ^c	2,5 ± 0,5 ^b	<0,001***	0,82
sas sanitaire	8,8 ± 0,2 ^c	2,0 ± 0,5 ^c	<0,001***	0,003**
Réfrigérateur	8,7 ± 0,4 ^c	1,9 ± 0,5 ^c	<0,001***	0,002**

Tableau 2 : Impact du lieu de refroidissement des OAC sur leur stérilité intra-coquillière

	Stérilité intra-coquillière (%)	P
Salle d'élevage	0 ± 0 ^a	0,48
Convoyeur VMC OFF	4,8 ± 8,2 ^{ab}	TEMOIN
Convoyeur VMC ON	0 ± 0 ^a	0,48
Salle de stockage	2,4 ± 5,8 ^a	0,68
SAS sanitaire	17,8 ± 13,7 ^{ab}	0,05*
Réfrigérateur	21,4 ± 5,8 ^b	0,04*