

# **DECONTAMINATION DES CAMIONS ET CAGES DE TRANSPORT DE CANARDS : ETUDE DESCRIPTIVE DANS LE SUD-OUEST DE LA FRANCE DURANT L'EPIZOOTIE D'INFLUENZA AVIAIRE 2020-2021**

**Huneau-Salaün Adeline, Scoizec Axelle, Thomas Rodolphe, Martenot Claire, Schmitz Audrey, Pierre Isabelle, Allée Chantal, Busson Rachel, Massin Pascale, Briand François-Xavier, Guillemoto Carole, Louboutin Katell, Souchaud Florent, Cherbonnel-Pansart Martine, Niqueux Eric, Grasland Béatrice, Souillard Rozenn, Le Bouquin Sophie**

*Anses – Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, BP 53, 22440 Ploufragan  
[adeline.huneau@anses.fr](mailto:adeline.huneau@anses.fr)*

## **RÉSUMÉ**

En 2021, le contrôle de l'épizootie d'Influenza Aviaire (IA) a nécessité l'abattage d'un nombre important de troupeaux de canards dans le Sud-Ouest de la France. Une étude menée dans des conditions similaires en 2017 avait montré que la décontamination des caisses et camions utilisés pour le dépeuplement était souvent insuffisante. Cette nouvelle étude visait à évaluer l'efficacité du nettoyage et de la désinfection (N&D) des camions et caisses durant l'épizootie 2021 et déterminer si les pratiques avaient évolué depuis 2017. Un second objectif était d'estimer la corrélation entre les résultats des méthodes d'évaluation du N&D par i/ détection du génome d'influenzavirus (IAV) sur les surfaces, ii/ inspection visuelle de la propreté des caisses, iii/ dénombrement microbiologique sur prélèvement de surface, ces deux dernières méthodes étant usuellement utilisées en abattoir. Dans cinq abattoirs, huit camions et leurs caisses ont été prélevés par chiffonnage et écouvillonnage (208 échantillons) pour détecter par rRT-PCR la présence de génome IAV avant et après N&D. Une inspection visuelle de la propreté et des dénombrements des coliformes thermotolérants par écouvillonnage et boîte de contact ont été réalisés après N&D. Les protocoles de décontamination utilisés étaient propres aux abattoirs. Avant N&D, 75 % des caisses étaient positives pour le génome IAV et sept camions sur huit. Les procédures de N&D ont été renforcées en 2021, avec l'utilisation plus courante d'eau chaude et de détergent. Cependant, 28 % des caisses étaient encore positives IAV après N&D, bien que la propreté et les dénombrements bactériens aient été jugés satisfaisants pour respectivement 84 % et 91 % des caisses. Aucune corrélation n'a été observée entre les résultats de détection de génome viral et ceux de l'inspection visuelle et des dénombrements bactériens. La détection de génome IAV par rRT-PCR sur prélèvements de surface constitue la méthode la plus indiquée pour évaluer la décontamination des camions et caisses de transport dans un contexte d'IA. Renforcer les procédures de décontamination est encore nécessaire pour éviter une contamination résiduelle en IAV, avec une vigilance accrue sur les risques de contaminations croisées lors des processus.

## **ABSTRACT**

### **Evaluating efficacy of cleaning and disinfection of vehicles and transport crates during Avian Influenza outbreaks**

In 2021, France faced large avian influenza outbreaks. Controlling these outbreaks required the preventive depopulation of a large number of duck farms. A previous study in 2017 showed that the quality of decontamination of trucks and transport crates used for depopulation was often insufficient. A new study was then set up to evaluate cleaning and disinfection (C&D) of trucks and crates used for duck depopulation and whether practices had changed since 2017. Another objective was to evaluate the correlation of results between the methods used to assess decontamination: i/ detection of avian influenza virus (AIV) genome, ii/ visual inspection of cleanliness, and iii/ microbial counts, considering that ii and iii are commonly used in abattoirs. In five abattoirs, eight trucks and their crates were sampled by swabbing to detect AIV genome by rRT-PCR before and after decontamination. Visual cleanliness scores and coliform counts were also determined on crates after C&D. Trucks and crates were decontaminated according to the abattoirs' protocols. Before C&D, three quarters of crates (59/79) and 7 of 8 trucks were positive for AIV genome. C&D procedures were reinforced in 2021 compared to 2017; use of detergent solution and warm water were more common. Nevertheless, 28% of the crates were positive for AIV genome after C&D, despite the fact that cleaning scores and microbiological counts were satisfactory for 84% and 91% of the crates, respectively. No correlation was observed between results for AIV genome detection and results from visual control or from coliform counts. Abattoirs are encouraged to use environmental sampling coupled with AIV genome detection to monitor the quality of cleaning and disinfection of trucks and crates during AI outbreaks. Reinforcement of biosecurity measures at abattoirs is needed to avoid AIV residual contamination of the equipment and cross-contamination during the C&D process.

## INTRODUCTION

Durant l'hiver 2020-2021, la France a subi une épizootie d'Influenza Aviaire Hautement Pathogène (IA HP) de sous type H5 impliquant plus de 400 foyers, majoritairement dans la filière de canards gras du Sud-Ouest. Pour lutter contre la propagation de l'IA, un abattage préventif des troupeaux de canards a été mis en œuvre autour des exploitations infectées. Quatre abattoirs et une plateforme temporaire de dépeuplement ont été impliqués. Les camions servant au transport des canards à l'abattoir étaient décontaminés après chaque enlèvement. Une stratégie d'abattage préventif identique avait déjà été appliquée pour contenir l'épizootie d'IA HP dans la même zone durant l'hiver 2016-2017. Des observations avaient alors montré que la décontamination des camions et caisses de transport était parfois insuffisante (Huneau-Salaün et al. 2017). Une nouvelle étude a donc été réalisée en 2021 pour évaluer si l'efficacité de la décontamination des moyens de transport avait été améliorée sur la base de l'expérience de l'épizootie précédente. Un objectif secondaire était de comparer les méthodes d'évaluation de la décontamination classiquement utilisées par les opérateurs (évaluation visuelle de la propreté, dénombrement bactériologique de surface) avec la détection de génome de virus IA (VIA), afin de déterminer si les méthodes de routine pouvaient contribuer à la gestion du risque IA.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Sites d'abattage enquêtés

Les enquêtes et prélèvements en abattoir ont été réalisés entre le 18 et le 20 janvier 2021 par deux équipes de deux enquêteurs Anses. Quatre abattoirs ainsi que la plateforme de dépeuplement aménagée pour les circonstances sur un site de lavage de véhicules de transport de volailles ont été enquêtés. La décontamination d'un ou de deux camions a été étudiée par site enquêté, soit huit véhicules au total, le même camion étant suivi avant et après décontamination. La décontamination du matériel et du véhicule était réalisée par le personnel de l'abattoir et/ou le chauffeur, selon le protocole mis en place par l'opérateur d'abattage. Un questionnaire permettait de collecter les informations sur le protocole de nettoyage et désinfection (N&D).

### 1.2. Méthodes de contrôle de la décontamination

Le contrôle de la décontamination a été réalisé selon trois méthodes :

- Contrôle visuel de la propreté des caisses après N&D (dix par camion) selon une échelle à trois scores (sale, intermédiaire, propre),
- Contrôle bactériologique après N&D par dénombrement des coliformes thermotolérants par i/ écouvillonnage (chiffonnage) et ii/ empreinte sur gélose (boîte de contact). Les surfaces contrôlées

comprenaient le fond de dix caisses par camion, le plateau, les montants latéraux et le hayon arrière du véhicule,

- Contrôle virologique par recherche rRT-PCR du gène M des VIA sur prélèvement de surface. Dix caisses ont été contrôlées avant et après N&D ainsi que plusieurs surfaces du camion : carrosserie extérieure, roue et cabine. Les prélèvements étaient réalisés avec un écouvillon stick dans les rainures des caisses et des chiffonnettes sur les surfaces du camion. Un prélèvement est considéré positif si la présence de gène M est détectée.

Après N&D, les mêmes caisses ont été contrôlées avec la méthode visuelle, le dénombrement bactérien et la recherche de génome VIA pour comparer les résultats. Pour le contrôle virologique, les prélèvements n'ont pas été effectués sur les mêmes caisses avant et après N&D mais le même lot de conteneurs en provenance d'un camion a été contrôlé aux deux étapes.

## 2. RESULTATS

### 2.1. Organisation des flux de circulation

Une analyse des circuits de camions de transport et des caisses a été réalisée à partir des plans de site des abattoirs. Dans les quatre abattoirs, les circuits des camions de transport et des caisses ont été aménagés selon le principe de la marche en avant d'une zone sale (quai de réception des caisses et de déchargement des animaux) vers une zone propre (quai de chargement des caisses propres dans les camions). Cependant, dans trois abattoirs, les quais de déchargement et de rechargement des caisses étaient proches, simplement séparés par une cloison non étanche. De plus, les zones d'accrochage des canards, de lavage des caisses et de stockage des cages décontaminées étaient très proches et pas complètement séparées. Un flux d'air, visuellement chargé notamment de plumes, circulait depuis les zones les plus contaminées vers l'aire de stockage des caisses propres. Dans deux abattoirs, le circuit des camions sur le site formait également une boucle, menant à l'entrée et à la sortie des véhicules par un seul portail d'accès, avec un croisement des véhicules propres et sales. Pour la plateforme de dépeuplement, le principe de la marche en avant n'était pas respecté car les camions repassaient par la même voie de circulation avant et après N&D. L'aire d'équarrissage était située à proximité de la zone de stockage des caisses décontaminées, amenant le véhicule d'enlèvement des cadavres à passer en zone propre.

## 2.2. Protocoles de décontamination

Les protocoles de décontamination des véhicules étaient comparables dans les cinq sites, comprenant un lavage avec détersion puis un décapage haute pression et au moins une désinfection par pulvérisation. Les désinfectants employés étaient tous virucides aux doses employées, et dans quatre abattoirs, les produits indiquaient une efficacité démontrée *in vitro* spécifiquement contre les virus IA de type H5N1 (selon la norme EN 14675). La décontamination était généralement réalisée par le chauffeur avec les moyens mis à disposition par l'abatteur. La décontamination de la cabine était laissée à la responsabilité du chauffeur sans protocole recommandé, hormis pour le tapis de sol qui était sorti et traité comme le reste du camion. Les chauffeurs avaient diverses pratiques pour la désinfection de la cabine : lingettes, vinaigre blanc, fumigation après la journée de travail.

Les abattoirs étaient équipés de tunnels pour le lavage des caisses et des supports roulants, sauf la plateforme. De nouveau, les protocoles de N&D étaient assez similaires dans les cinq sites: application d'un détergent alcalin, décapage haute pression suivi d'une à deux désinfections avec un produit virucide. La qualité du lavage était immédiatement contrôlée visuellement dans deux abattoirs, ce qui permettait de procéder à un nettoyage et une désinfection complémentaires en cas de résultat insatisfaisant. Les caisses décontaminées étaient directement rechargées sur les camions, sans séchage.

Par rapport à 2017, les protocoles de décontamination des caisses, bien que variables selon les abattoirs, intégraient tous une phase de détersion. L'utilisation d'eau chaude était systématique dans les quatre abattoirs alors qu'elle n'était effective que dans deux sur quatre en 2017. Les protocoles de décontamination des véhicules étaient aussi plus complets, avec l'introduction d'une phase de détersion par moussage. Cependant, les cabines demeurent un point à risque avec des prélèvements fréquemment positifs (voir 2.4). Aucune amélioration des pratiques n'a été notée, l'abattoir n'imposant ni procédure spécifique de décontamination ni contrôle du nettoyage. La cabine est un espace dont le nettoyage et la désinfection sont laissées à l'initiative du transporteur.

## 2.3. Propreté et dénombrements bactériens

La propreté visuelle a été contrôlée sur 80 caisses après N&D, sur des cages prêtes à être rechargées. La propreté visuelle a été jugée satisfaisante pour 67 caisses (84 %), trois abattoirs ayant toutes les cages contrôlées classées « propres ». Un nettoyage moyen

ou insatisfaisant a parfois été constaté dans un abattoir et sur la plateforme. Sur cette dernière, les caisses décontaminées étaient stockées à proximité de la réception des animaux vivants et des bennes d'équarrissage : les plumes en suspension dans l'air venaient se déposer sur les cages propres. Les résultats des dénombrements de coliformes thermotolérants par chiffonnage sur fond de caisse étaient inférieurs au seuil de détection (1 UFC/10 cm<sup>2</sup>) pour 74 prélèvements (92 %). De même, 76 boîtes de contact (95 %) ne présentaient aucune colonie, ce qui correspond à moins d'une UFC pour 24 cm<sup>2</sup>. Aucune contamination résiduelle n'était ainsi détectée par ces deux méthodes pour 73 caisses (91 %). Des résultats moins satisfaisants ont été obtenus pour cinq des dix caisses contrôlées sur la plateforme, avec plus de 10 UFC/cm<sup>2</sup>. Les boîtes de contact pratiquées sur les camions ont permis de détecter une contamination résiduelle inférieure à 1 UFC/cm<sup>2</sup> sur toutes les surfaces pour six des huit véhicules. Une contamination résiduelle supérieure à 1 UFC/cm<sup>2</sup> a été détectée sur le plateau d'un camion dans un abattoir et sur les hayon, montant et plateau du camion suivi sur la plateforme de dépeuplement.

## 2.4. Détection de traces de VIA

Avant décontamination, près de trois quarts des prélèvements sur véhicules (23) et caisses de transport (80) (74/103, 72 %) étaient positifs vis-à-vis du gène M du VIA (Tableau 1). Un des camions étudiés transportait un lot de canard négatif vis-à-vis de l'IA et les caisses et véhicule ont effectivement été contrôlés négatifs avant N&D. Au contraire, tous les autres chargements de canards transportés étaient excréteurs d'IA et le taux de positivité des caisses variaient de 10 % à 100 %. Par ailleurs, les prélèvements sur véhicules (châssis, roues et/ou cabine) ont permis de détecter la présence de génome viral sur tous les camions transportant des canards infectés. Le châssis et le plateau étaient plus souvent contaminés que la cabine ou les roues.

Après N&D, des traces de génome viral ont été détectées dans 28 % des prélèvements (29/105). Le taux de positivité des caisses était de 29 % (23/80) et dans un abattoir, aucune contamination résiduelle n'a été détectée. Ces résultats satisfaisants ont été obtenus sur un lot de caisses initialement peu contaminé (1/10) mais aussi sur un chargement avec 9 caisses sur 10 positives avant N&D. Ces observations montrent que le protocole de décontamination de l'abattoir a été efficace. Au contraire, deux caisses sur 10 ont été détectées positives après N&D sur un camion dans un abattoir alors qu'aucune contamination initiale n'avait été observée sur cette surface. Il est possible qu'une contamination initiale n'ait pas été détectée lors des prélèvements avant lavage. Néanmoins, une contamination croisée peut être aussi survenue lors du

N&D, puisque le lot n'était pas le premier abattu de la journée. Une diminution importante du nombre de prélèvements positifs après décontamination a été observée pour le châssis et le plateau des camions. Cependant, du génome viral était encore détectable dans trois cabines après décontamination, cette zone n'étant pas systématiquement traitée. Dans un cas, la cabine était positive après décontamination alors que le prélèvement était négatif avant, suggérant une contamination au cours du traitement du véhicule.

D'un point de vue méthodologique, la recherche du gène M par rRT-PCR ne permet pas de savoir si l'ARN détecté correspond à la présence de virus infectieux ; celle-ci ne peut être déterminée que par isolement viral. L'avantage de la recherche du gène M par rRT-PCR est sa mise en œuvre beaucoup plus rapide et simple que l'isolement viral, la rendant intéressante pour le suivi de la contamination environnementale et l'évaluation de l'efficacité de la décontamination. L'absence de contamination résiduelle sur plusieurs surfaces testées montre qu'il est possible d'obtenir une élimination complète des traces d'IA et que cet indicateur renseigne correctement sur la qualité de la décontamination.

## **2.5. Comparaison des méthodes d'évaluation**

Une présence résiduelle de génome viral a été observée sur 29 % des caisses alors que ces mêmes caisses ont été jugées « propres » à 84 % et ne présentaient aucune contamination fécale dans 91 % des cas (Tableau 2). Le taux de caisses jugées « propres » était similaire pour les cages positives IA (19/23, 83 %) et pour celles négatives IA (48/57, 84 %). De même, 87 % des chiffonnages sur des caisses positives IA ne montraient aucune contamination fécale résiduelle contre 95 % des caisses négatives IA. Pour le contrôle bactériologique par empreinte, 91 % des boîtes prélevées sur des caisses positives IA (21/23) ne présentaient aucune colonie contre 96 % (55/57) pour celles prises sur des cages négatives IA. L'ensemble de ces observations montre l'absence de corrélation entre les résultats visuels et bactériologiques d'une part et les résultats virologiques d'autre part.

Concernant le contrôle visuel, il est courant d'observer des résultats non corrélés entre la propreté et les dénombrements microbiologiques (Huneau-Salaün et al., 2010). Le contrôle visuel est une étape préalable aux contrôles microbiologiques ; ces derniers ne sont normalement réalisés que sur des surfaces visuellement propres. Les observations effectuées démontrent que la propreté visuelle, s'il s'agit d'un prérequis, ne constitue pas un indicateur de l'efficacité de la décontamination vis-à-vis du risque IA.

L'absence de corrélation entre les résultats des contrôles bactériologiques et virologiques peut, d'une part, être liée aux choix des surfaces prélevées dans les caisses. Les chiffonnettes et boîtes de contact ont été appliquées sur le fond de caisse alors que les écouvillons pour la recherche virologique ont été passés dans les jointures entre le fond et les parois latérales. Les surfaces contrôlées ne sont donc pas directement comparables et ne présentent pas la même aptitude à la décontamination. D'autre part, les dénombrements bactériens ont porté sur les coliformes thermotolérants qui peuvent être plus fréquemment nuls que ceux des enterocoques thermotolérants sur des surfaces décontaminées. Le dénombrement des enterocoques constituerait donc une méthode plus stricte de contrôle de la décontamination, qu'il pourrait être intéressant de tester en association avec la méthode virologique. La présente étude montre que dans un contexte d'épizootie d'IA, la méthode de dénombrement des coliformes thermotolérants n'est pas un indicateur pertinent de la contamination résiduelle des surfaces par du génome d'IA. A noter également que les prélèvements par boîtes de contact se sont avérés peu adaptés pour les contrôles post-désinfection car les caisses n'étaient pas suffisamment sèches pour une application optimale de la gélose.

## **CONCLUSION**

Cette nouvelle étude a permis d'apporter des éléments de réponse concernant la méthode d'évaluation de l'efficacité de la décontamination vis-à-vis de l'IA. Les méthodes utilisées en routine dans les abattoirs, contrôles visuel et bactériologique, ne renseignent pas sur le risque de persistance de génome viral sur les caisses. Il est donc nécessaire de procéder à la recherche par rRT-PCR du gène M du VIA pour évaluer les procédures de décontamination vis-à-vis de ce risque spécifique. Par rapport à l'étude menée en 2017, les procédés de décontamination des abattoirs ont été améliorés, avec l'intégration systématique d'une phase de détersion dans le nettoyage des caisses et des véhicules. Les résultats demeurent néanmoins variables selon les abattoirs, des risques de contaminations croisées liés à des contraintes structurelles étant encore présents.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Huneau-Salaün A. et al., 2010. Brit. Poult. Sci., 51(2): 204-212.

Huneau-Salaün A. et al., 2017. Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation n°80 (2), 6-9.

**Tableau 1.** Détection du génome de viral d'IA avant et après décontamination de huit véhicules de transport de canards (5 abattoirs, France, 2021)

| <b>Avant décontamination N=103*</b> |                          |         |             |                          |           |
|-------------------------------------|--------------------------|---------|-------------|--------------------------|-----------|
|                                     | Résultats rRT-PCR gène M |         |             | Valeur Ct rRT-PCR gène M |           |
|                                     | non détecté              | détecté | % détection | mediane                  | min-max   |
| Cabine                              | 3                        | 5       | 62          | 35.3                     | 34.9-37.2 |
| Châssis extérieur                   | 1                        | 7       | 87          | 35.1                     | 29.3-39.9 |
| Roues                               | 5                        | 3       | 38          | 37.1                     | 35.4-37.1 |
| Caisses                             | 20                       | 59      | 75          | 32.1                     | 26.2-37.4 |
| Total                               | 29                       | 74      | 72          | 32.8                     | 26.2-39.9 |
| <b>Après décontamination N=105*</b> |                          |         |             |                          |           |
|                                     | Résultats rRT-PCR gène M |         |             | Valeur Ct rRT-PCR gène M |           |
|                                     | non détecté              | détecté | non détecté | détecté                  | min-max   |
| Cabine                              | 5                        | 3       | 38          | 37.1                     | 35.3-39.6 |
| Châssis extérieur                   | 7                        | 2       | 22          | 34.2                     | 32.3-36.2 |
| Roues                               | 7                        | 1       | 12          | 36.6                     |           |
| Caisses                             | 57                       | 23      | 29          | 36.4                     | 31.1-38.2 |
| Total                               | 76                       | 29      | 28          | 36.4                     | 31.1-39.6 |

\*Le nombre de prélèvements diffère avant et après décontamination à cause des contraintes de réalisation : deux prélèvements n'ont pas été faits avant N&D pour ne pas ralentir la mise en œuvre du nettoyage par l'opérateur

**Tableau 2.** Résultats des contrôles visuels et microbiologiques (dénombrement des coliformes thermotolérants) sur caisses de transport de canards en fonction de la détection de génome viral d'IA après décontamination (80 caisses, 5 abattoirs, France, 2021)

| Méthode                                        | Classe                   | Recherche gène M par RT-PCR |         |
|------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------|---------|
|                                                |                          | négatif                     | positif |
| Contrôle visuel                                | propre                   | 48                          | 19      |
|                                                | moyen                    | 5                           | 4       |
|                                                | sale                     | 4                           |         |
| Contrôle microbiologique par chiffonnette      | < seuil détection        | 54                          | 20      |
|                                                | <10 UFC/cm <sup>2</sup>  | 1                           |         |
|                                                | <100 UFC/cm <sup>2</sup> | 1                           | 3       |
|                                                | indénombrable            | 1                           |         |
| Contrôle microbiologique par boîtes de contact | < seuil détection        | 55                          | 21      |
|                                                | <1 UFC/cm <sup>2</sup>   |                             | 1       |
|                                                | <10 UFC/cm <sup>2</sup>  | 1                           |         |
|                                                | indénombrable            | 1                           | 1       |