



Essais d'évaluation de la désinfection par voie aérienne

Aurélie CABLE⁽¹⁾ et Eric FARGEAS⁽²⁾

(1) LRE – Domaine de Saporta – 34970 LATTES

(2) ITAVI – Domaine de Saporta – 34970 LATTES

RESUME

Le vide sanitaire vise à garantir la qualité et la salubrité des produits sortis de l'élevage et à préserver la santé et la salubrité du lot à venir. La deuxième désinfection, dernière étape de ce vide sanitaire, doit être garante du niveau de contamination du bâtiment et du matériel d'élevage. Dans le cadre de leur programme de sécurité des aliments, LRE et l'ITAVI ont poursuivi les essais menés sur le contrôle de la qualité sanitaire sur la période du vide sanitaire par des expérimentations ciblées sur la deuxième désinfection. Elles visent à comparer deux méthodes de désinfection par voie aérienne, la fumigation et la thermonébulisation.

Les essais se sont déroulés sur deux élevages du département du Gard, aux mois d'octobre 1999 et de mars 2000. Trois méthodes d'analyse ont été employées : des contrôles bactériologiques par boîtes de contact et par porte-germes et des contrôles de l'aérobiocontamination.

Ces expérimentations n'ont pas permis de montrer une différence significative entre la fumigation et la thermonébulisation, mais elles permettent néanmoins de confirmer leur efficacité. D'autres expérimentations pourront être mises en place afin de préciser les conclusions qui ont été mises en évidence.

SUMMARY

The sanitary void aims to guarantee the quality and the healthiness of products leaving the breeding and to preserve the health and the healthiness of the animals entering. The second disinfection, last stage of this sanitary void, has to guarantee the level of contamination of the building and the equipment of breeding. In the framework of their program of food security, LRE and ITAVI have continued tests realised on the control of the sanitary quality about the sanitary void period, by experimentations targeted on the second disinfection. They aim to compare two disinfection methods, the fumigation and the thermonebulisation

Tests took place in two breedings of the Gard department, during October 1999 and March 2000. Three methods of analysis have been employed, two kinds of bacteriological controls and controls of the aerobiocontamination.

These experimentations did not permit to show a significant difference between the fumigation and the thermonebulisation, nevertheless they permit to confirm their efficiency. Others experimentations would be realised in order to specify conclusions that have ever been shown.

Depuis 1995, Languedoc Roussillon Elevage a mis en place un programme de sécurité alimentaire visant à maîtriser la qualité sanitaire du produit volaille à tous les maillons de la filière, tant au niveau des abattoirs que des élevages, conduisant à la réalisation de deux référentiels d'élevage et d'abattage.

Au niveau du volet élevage, une première série d'essais a été menée en 1999 visant à valider le protocole de nettoyage - désinfection

proposé dans le cadre du référentiel régional.

Le vide sanitaire est une étape fondamentale de la conduite en bande d'un élevage. Il a deux objectifs principaux : préserver la santé et la salubrité du lot à venir et garantir la qualité et la salubrité des produits sortis de l'élevage.

La mise en place d'un plan HACCP en élevage a mis en évidence l'existence de points critiques qui ont conduit à la mise en

place d'expérimentations. Des contrôles du niveau de contamination ont été réalisés tout au long de la période du vide sanitaire (voir figure 1).

Le vide sanitaire réel est la phase de temps entre la fin de la première désinfection et le début de la deuxième qui correspond à la dernière étape avant l'arrivée des poussins dans le bâtiment. Cette deuxième désinfection constitue donc une phase importante,

garante du niveau de contamination du bâtiment et du matériel d'élevage.

Dans le cadre de son programme de sécurité alimentaire et en collaboration avec les sociétés DUC S.A., LCB et SUDELVET, LRE et l'ITAVI ont poursuivi les essais de 1999 et mis en place des expérimentations en vue de tester deux techniques de désinfection par voie aérienne : la fumigation et la thermonébulisation.

1. Présentation des deux élevages

Les expérimentations se sont déroulées sur deux élevages du département du Gard possédant chacun deux bâtiments ou deux salles identiques afin de comparer les deux techniques de désinfection par voie aérienne.

Le premier élevage est composé de deux bâtiments tunnels de 1 244 m² chacun (correspondant à un volume à traiter de 4 500 m³), jugés comme bien étanches. Ils sont équipés d'une ventilation statique avec lanterneau ascenseur et d'une chaîne à spirales au sol.

Le second élevage est composé de deux salles de 975 m² chacune (correspondant à un volume à traiter de 3 200 m³), séparées par un sas sanitaire central, qui sont jugées comme peu étanches du fait de leur âge et de leur conception. Les entrées d'air bilatérales hautes en sous toiture et l'extraction dynamique basse et bilatérale rendent le bâtiment plus difficile à nettoyer. Il est équipé d'une chaîne aérienne avec descentes et trémies.

L'un comme l'autre sont équipés de lignes de pipettes Lübing.

Il est important de noter que les deux élevages sont en conformité vis-à-vis du référentiel régional de sécurité des aliments, au niveau des protocoles de désinfection, de l'équipement des sas sanitaires et des enduits lisses sur les soubassements.

2. Protocole général

On cherche à comparer l'effica-

cité de deux techniques en deuxième désinfection. Pour cela, sur chaque site, la procédure habituelle de nettoyage, désinfection a été appliquée de façon identique dans chacun des bâtiments ou dans chacune des salles. Seules les techniques de deuxième désinfection ont varié. Dans le bâtiment 1 et la salle 1 on a réalisé la thermonébulisation et dans le bâtiment 2 et la salle 2, la fumigation (voir figure 2). Les expérimentations se sont déroulées dans des bâtiments accueillant des poulets certifiés DUC abattus à 56 jours.

Le produit employé pour la fumigation est le FUMAGRI S (matières actives : PHPS et huiles essentielles) du laboratoire LCB, à la dose de 1 g par m³.

Le produit employé pour la thermonébulisation est le TOP FIRST, à base d'aldéhyde, à la dose de 1,75 ml par m³.

Afin de contrôler l'efficacité de chacune de ces deux techniques, nous avons fait appel à 3 méthodes d'analyse : un contrôle bactériologique au moyen de boîtes de contact, un contrôle bactériologique au moyen de porte-germes et un contrôle de l'aérobiocontamination.

Les essais se sont déroulés en deux phases, en octobre 1999 et en mars 2000. Au printemps 2000, les expérimentations se sont limitées à un seul des deux élevages.

3. Description de chaque méthode d'analyse

3.1 Méthode d'évaluation de l'efficacité par boîtes de contact

Afin de contrôler l'efficacité comparée de ces deux techniques, on a pratiqué pour chaque bâtiment ou salle d'élevage, deux séries de 16 prélèvements. On utilise à cet effet des boîtes de contact auxquelles a été incorporée une solution neutralisante de désinfectant (méthode tirée du contrat de progrès du CIDEF).

Les prélèvements de la première série ont été réalisés 24 heures

avant la deuxième désinfection et en présence de la paille et du matériel, afin de connaître le niveau de contamination du bâtiment.

Les prélèvements de la deuxième série ont été réalisés 24 heures après la deuxième désinfection, les bâtiments restant fermés pendant ces 24 heures.

Pour chacune des deux séries, on a réalisé :

- 4 prélèvements au niveau des soubassements,
- 4 prélèvements sur les parois des longs pans, à un mètre du sol, sous les volets d'entrée d'air,
- 4 prélèvements au hasard sur les abreuvoirs,
- 4 prélèvements au hasard sur les assiettes.

Les germes qui ont été recherchés sont les streptocoques fécaux. Ils constituent un indicateur pertinent de la présence de germes fécaux dans le milieu, car ils sont très résistants. La grille de lecture utilisée est celle proposée par AFSSA-CIDEF (voir tableau 1).

Tableau 1 : Grille de lecture AFSSA-CIDEF

Nombre de colonies par boîtes	Classe	Appréciation du niveau de contamination
0-2	1	Très bien
3-9	2	Bien
10-25	3	Acceptable
26-50	4	Mauvais
>50	5	Très mauvais

3.2 Méthode d'évaluation de l'efficacité sur l'aérobiocontamination

On cherche à comparer l'efficacité des différentes méthodes de désinfection par voie aérienne sur l'aérobiocontamination et en particulier sur *Aspergillus fumigatus*.

La méthode de mesure de cette efficacité repose sur des prélèvements d'air accompagnés de relevés thermohygrométriques. Cela consiste à prélever 100 litres d'air par minute, au centre du bâtiment à 0,5 et 3 mètres de hauteur ainsi qu'à l'extérieur du bâtiment pour constituer une mesure de réf-

rence. Ces prélèvements ont lieu avant et après la désinfection par voie aérienne.

On utilise pour cela un aérobio-collecteur AIRTEST OMEGA, les prélèvements se faisant par impaction à travers un crible. On utilise également un thermohygromètre électronique, pour connaître les conditions d'ambiance du bâtiment.

Les prélèvements sont recueillis sur gélose Malt Yeast Agar (d'un diamètre de 90 mm) et sont incubés à 42°C pendant 7 jours, des lectures étant faites à 48 heures, 72 heures, 5 jours puis 7 jours.

On cherche alors à dénombrer les moisissures (*Aspergillus*) et bactéries, en exprimant les résultats en unités formant colonie par mètre cube d'air (UFC/m³).

■ 3.3 Méthode d'évaluation de l'efficacité bactéricide sur surfaces

La méthode mise en œuvre pour évaluer l'efficacité bactéricide sur surface est adaptée du protocole normalisé NF T72281 (procédé de désinfection des surfaces par voie aérienne) qui permet de définir l'activité désinfectante d'un procédé. Elle consiste à placer dans le bâtiment et en des endroits déterminés, des porte-germes (voir figure 3).

Les porte-germes sont constitués de souches bactériennes GRAM + et/ou GRAM -, provenant de la collection Institut Pasteur, déposées et séchées sur des verres de montre. Les porte-germes sont préparés à partir d'une suspension mère de titre connu, 4 heures avant le début de l'exposition à la désinfection. Ils sont disposés dans le bâtiment une heure avant le début de la désinfection, un porte-germe témoin de chaque souche bactérienne étant conservé à température ambiante.

Suite à la désinfection, les porte-germes sont plongés dans une solution de diluant-neutralisant. Ce liquide de récupération est ensemencé sur gélose PCA puis mis à incuber à 37°C pendant 48 heures.

Les résultats sont exprimés en réduction logarithmique obtenue

entre le porte-germe exposé et le porte-germe témoin. Une réduction de 1 log correspond à une réduction du nombre de bactéries d'un facteur 10, une réduction de 2 log correspond à une réduction du nombre de bactéries d'un facteur 100.

4. Résultats et discussion

■ 4.1 Résultats de l'analyse par boîte de contact

Suite aux prélèvements qui ont été réalisés en première série, c'est-à-dire avant la deuxième désinfection, le bâtiment de l'élevage I apparaissait comme plus fortement contaminé avec un niveau de contamination jugé Acceptable à Très Bien selon la grille AFSSA-CIDEE. Les bâtiments de l'élevage II sont quant à eux jugés Très Bien (voir tableaux 2 et 3).

Quel que soit le bâtiment ou la salle d'élevage, il y a une absence de colonies dans les boîtes analysées suite à la thermonébulisation sur les 32 prélèvements effectués (16 dans chacun des deux élevages). Pour la fumigation, on obtient 1 à 6 colonies par boîte, ce que l'on peut considérer

comme Bien à Très Bien (voir tableaux 2 et 3).

Etant donné le faible nombre de prélèvements réalisés lors de l'expérimentation et la différence de contamination existant au départ entre les deux élevages, on ne peut donner une supériorité significative à l'une ou l'autre des deux méthodes.

Toutefois, il est important de noter que les niveaux de décontamination atteints par chacune des deux méthodes sont très satisfaisants et tendent à prouver leur efficacité.

■ 4.2 Résultats de l'analyse de l'aérobiocontamination

Pour les essais réalisés en mars 2000, il n'y a présence d'*Aspergillus fumigatus* ni avant, ni après la désinfection. En revanche, les prélèvements d'octobre montrent la présence importante d'*Aspergillus fumigatus* avant la désinfection dans chacun des deux bâtiments, les colonies contenues dans les boîtes étant indénombrables (>16 000).

Suite aux traitements de deuxième désinfection, la thermonébulisation permet de réduire la contamination à un nombre de 55 colonies par boîtes contre un nombre de 47 colonies par boîte avec la fumigation (voir tableau 4). On obtient

Tableau 2 : Nombre de colonies obtenues par boîte de contact pour l'élevage I

	Thermonébulisation		Fumigation	
	Avant	Après	Avant	Après
Soubassements	6 (B)	0 (TB)	62 (A)	1 (TB)
Parois	1 (TB)	0 (TB)	21 (A)	0 (TB)
Abreuvoirs	2 (TB)	0 (TB)	9 (B)	2 (TB)
Mangeoires	0 (TB)	0 (TB)	1 (TB)	2 (TB)

Tableau 3 : Nombre de colonies obtenues par boîte de contact pour l'élevage II

	Thermonébulisation		Fumigation	
	Avant	Après	Avant	Après
Soubassements	0 (TB)	0 (TB)	0 (TB)	0 (TB)
Parois	0 (TB)	0 (TB)	0 (TB)	0 (TB)
Abreuvoirs	0 (TB)	0 (TB)	1 (TB)	0 (TB)
Mangeoires	0 (TB)	0 (TB)	0 (TB)	6 (B)

TB : Très Bien, B : Bien, A : Acceptable, M : Mauvais et TM : Très Mauvais.

donc des résultats assez proches pour les deux méthodes.

Tableau 4 : Nombre de colonies d'*Aspergillus fumigatus* par boîte

	Thermonébulisation	Fumigation
Avant	>16 000	>16 000
Après	55	47

A partir des résultats d'octobre 1999, on peut conclure à l'efficacité des deux méthodes qui permettent d'atteindre des niveaux de décontamination satisfaisants dans chaque bâtiment. L'efficacité de la fumigation et de la thermonébulisation sur *Aspergillus fumigatus* n'est pas ici significativement différente.

En ce qui concerne les bactéries, on constate une légère différence de contamination initiale en flore totale avant la désinfection entre les deux bâtiments (voir tableau 5). Le bâtiment dédié à la fumigation présentait une aérobiocontamination initiale deux fois plus élevée que le bâtiment dédié à la thermonébulisation.

Suite aux traitements, le facteur de réduction global obtenu par la thermonébulisation est de 2, alors qu'il est de 4,2 par la fumigation.

Les niveaux de contamination n'étant pas les mêmes au départ dans les deux bâtiments, il est difficile de conclure quant à la supériorité de l'une ou l'autre des deux méthodes. Cependant, on constate

dans le cadre de l'efficacité sur GRAM +/GRAM - que la thermonébulisation est plus efficace dans la partie basse du bâtiment ; le caractère aléatoire des différences est cependant probable.

4.3 Résultats de l'analyse sur porte-germes

Tous les résultats, et notamment une partie de ceux obtenus pour la thermonébulisation, ne peuvent être pris en compte. Certains porte-germes présentent un dépôt résiduel très épais et difficile à rincer lors de l'analyse (voir tableau 7). Ce dépôt provient d'un surdosage local très important sur certains porte-germes. On peut supposer que l'opérateur a pu insister sur les porte-germes les plus accessibles.

Entre les résultats d'octobre et ceux de mars, on observe une différence assez importante d'efficacité des deux méthodes sur les bactéries GRAM +. Ceci peut s'expliquer par les conditions défavorables dans lesquelles se sont déroulés les essais du mois

Tableau 6 : Efficacité de la désinfection exprimée en réduction logarithmique (octobre 1999)

	GRAM+					
Porte-germes	1	2	3	4	5	6
Thermonébulisation	3,5	3,5	4,8	3,7	2,1	-
Fumigation	-	5,2	-	-	-	5,2

Tableau 5 : Nombre de bactéries exprimé en unités formant colonies par m³ d'air (UFC/m³)

	0,5 m de hauteur		0,5 m de hauteur	
	Avant	Après	Avant	Après
Thermonébulisation	30	10	30	20
Fumigation	50	30	80	20

Tableau 7 : Efficacité de la désinfection exprimée en réduction logarithmique (mars 2000)

	GRAM +						GRAM -					
Porte-germes	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Thermonébulisation	3,3*	3,6*	0,2	1,4*	0,2	0,1	3*	5*	3	2	1	2
Fumigation	0,1	0,1	0,2	0,3	0,2	0,1	2	3	3	3	3	2

* Porte-germes présentant un surdosage

de mars, à savoir une ambiance froide (10°C) et sèche (hygrométrie < à 60%) rendant les bactéries moins sensibles à la désinfection. Ainsi, pour les résultats de mars (voir tableau 7), les deux méthodes ne sont pas efficaces sur les bactéries GRAM +, alors qu'elles sont efficaces sur les bactéries GRAM -. Sur les essais du mois d'octobre (voir tableau 6), les deux méthodes sont efficaces sur GRAM +. On observe cependant une tendance pour la thermonébulisation à être plus efficace dans les parties basses du bâtiment, alors que la fumigation semble être plus efficace dans les parties hautes.

On observe une efficacité des deux techniques de désinfection significativement supérieure sur GRAM - à celle sur GRAM +. Dans tous les cas où il n'y a pas surdosage de la thermonébulisation, la fumigation a une efficacité supérieure ou égale à celle de la thermonébulisation.

La fumigation comme la thermonébulisation n'apparaissent pas significativement efficaces sur GRAM + pour l'essai de mars. Cependant, les essais qui ont été menés en octobre 1999, ont donné des résultats supérieurs à 4 log pour ces deux techniques, c'est-à-dire qu'elles peuvent être considérées comme efficaces. Les conditions particulièrement défavorables aux essais de mars 2000 peuvent expliquer cette différence de résultat, d'autant que des essais réalisés en interne par LCB sur la fumigation, prouvent son efficacité non seulement sur GRAM - mais également sur GRAM +. En caisson étanche, on obtient des résultats de l'ordre de 5 à 6 log, bien supérieurs donc à ceux obtenus en bâtiments d'élevage.

5. Conclusion

Hormis les problèmes d'étanchéité et de mauvaises conditions d'ambiance rencontrés lors des expérimentations, la fumigation comme la thermonébulisation s'avèrent être deux techniques de deuxième désinfection qui se

révèlent efficaces à l'appui des différentes méthodes d'évaluation employées. On observe en effet une homogénéité de résultats supérieure pour la fumigation par rapport à la thermonébulisation sur l'ensemble des expérimentations menées. Il semblerait donc que la thermonébulisation ait une action plus ciblée par rapport à la fumigation. Le niveau d'efficacité est plus constant même s'il est parfois inférieur.

L'effet manipulateur pouvant biaiser les résultats et donc influencer sur l'efficacité du produit dans le cas de la thermonébulisation, la fumigation présente l'avantage de ne pas présenter d'effet manipulateur, puisque ne nécessitant pas d'intervention humaine en cours de traitement, et permet donc d'obtenir une répartition plus homogène du produit dans le bâtiment. Il nous semble que la fumigation, de par son côté pratique, est promise à un développement prochain dans la mesure où son coût rejoint celui de la thermonébulisation.

Afin de préciser les conclusions qui ont pu être mises en évidence à partir des essais d'octobre 1999 et de mars 2000, de nouvelles expérimentations devront être mises en place permettant de confirmer ou d'infirmer les résultats déjà obtenus.

Figure 1 : Période du vide sanitaire

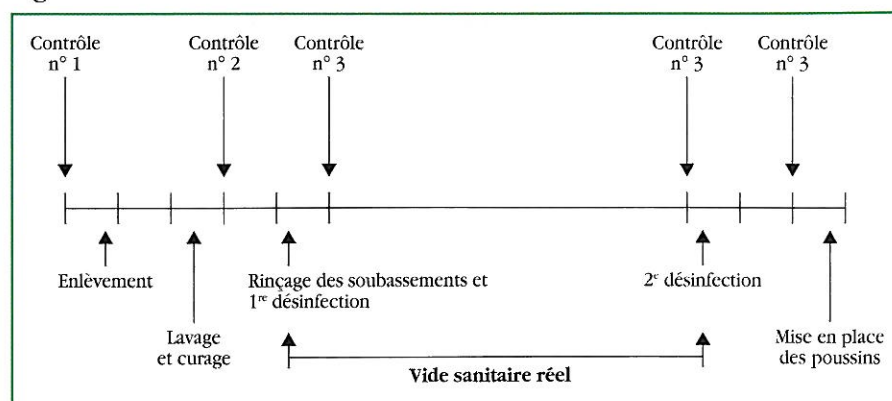


Figure 2 : Protocole

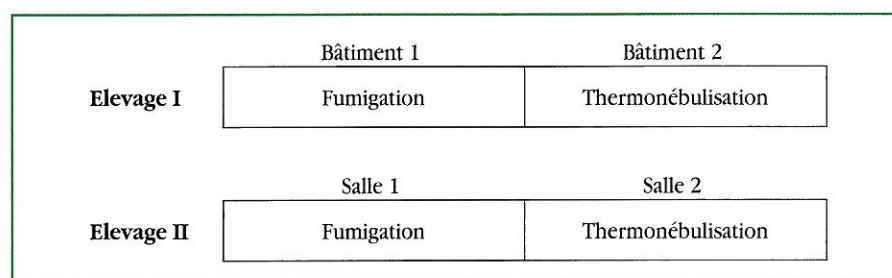
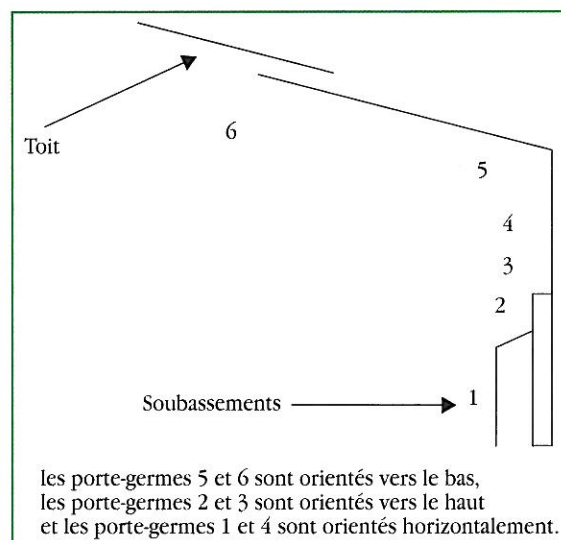


Figure 3 : Disposition des porte-germes dans le bâtiment



Références bibliographiques

Anonyme, 1995 - Poulailleurs : La désinfection ne s'improvise pas. Filières Avicoles n°565, juin 1995, p. 46-50.

Anonyme, 1997 - Le nécessaire contrôle de la décontamination. Filières Avicoles n°592, octobre 1997, p. 38-42.

Anonyme, 1997 - Bloc-notes hygiène et décontamination. L'éleveur de Lapins, novembre-décembre 1997, p. 42.

Anonyme, 2000 - La fumigation : Un procédé efficace de désinfection. Filières Avicoles n° 618, février 2000, p. 81-82.

Le Coz P., 1991 - Nettoyage désinfection : Une technique d'élevage moderne. Porc magazine n°237, septembre 1991, p. 135-142.

Drouin P., 1996 - La maîtrise de l'état sanitaire dans les bâtiments d'élevage avicole : La décontamination. CNEVA Ploufragan, mars 1996.

LListosella E., 1996 - Décontamination : La grande lessive. Réussir Aviculture n°13, janvier 1996, p. 20-21.

Vienot E., 1999 - La thermonébulisation l'emporte sur la brumisation. Filières Avicoles n°611, juin 1999, p. 60-61.