

IMPACT D'UN TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE A BASE DE COLISTINE SUR LE COMPOSTAGE DES FUMIERS ET LA MAITRISE DE LA DIFFUSION DES RESIDUS DANS L'ENVIRONNEMENT

**Rousset Nathalie¹, Galliot Pascal¹, Tavares Manuel², Couet William³, Gobin Patrice³,
Keita Alassane², Aubert Claude¹, Kempf Isabelle⁴**

¹ITAVI – Antenne Ouest, 41 rue de Beaucemaine – 22440 PLOUFRAGAN

²ANSES Laboratoire de Ploufragan-Plouzané – Service d'Elevage et d'Expérimentation
Avicole et Cunicole-UMT SANIVOL, BP53 – 22440 PLOUFRAGAN

³Inserm U-1070 « Pharmacologie des Anti-Infectieux » Pôle Biologie Santé, secteur alpha,
niveau 2 – 1 rue Georges Bonnet, BP633 – 82022 POITIERS cedex

⁴ANSES Laboratoire de Ploufragan-Plouzané – Unité de mycoplasmaologie bactériologie, BP
53 – 22440 PLOUFRAGAN

rousset@itavi.asso.fr

RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail est de décrire l'impact d'un traitement antibiotique à base de colistine sur différentes modalités de gestion d'un fumier de poulet de chair, et notamment sur l'évolution des températures et la composition physico-chimique des produits obtenus. Par ailleurs, il s'agit de caractériser le risque de diffusion des résidus de colistine dans l'environnement. Pour ce faire, deux andains de fumier issus d'un premier lot de poulets traités (à 25 jours pendant 5 jours) par la colistine à la dose recommandée, ont été simplement stockés pendant 6 semaines. Deux autres andains de fumier issus d'un second lot de poulets n'ayant reçu aucun traitement antibiotique, ont été compostés pendant 6 semaines, via un retournement mécanique des tas au bout de 3 semaines. Le suivi des températures des quatre andains a donc été réalisé. Des échantillons de fumiers et de jus d'écoulement autour des andains à 0, 1, 2, 3 et 6 semaines ont par ailleurs été échantillonnés, en vue de déterminer leur composition physico-chimique (matière sèche, matières organique totale et matière minérale, azote total, C/N, phosphore total, potassium total) et leur teneurs en résidus de colistine. La présence de résidus de colistine dans le fumier de poulet de chair ne semble pas avoir d'impact sur l'activité de la flore aérobie responsable du compostage, comme en témoigne la composition physico-chimique des produits obtenus au bout de six semaines, ainsi que l'évolution des températures durant le suivi. Enfin, le risque de diffusion des résidus de colistine dans l'environnement semble relativement simple à maîtriser par un stockage en andains de quelques semaines.

ABSTRACT

Impact of colistin treatment on composting broiler manure and control the spread of antibiotics residues in the environment

The aim of this study is to describe the impact of colistin treatment on different methods of management of broiler chicken manure, in particular on the evolution of temperatures and physico-chemical composition of products obtained. Also, the aim is to characterize the risk of spread of colistin residues in the environment. Two manure heaps from a first batch of broilers treated with colistin (to 25 days for 5 days) were simply stored for 6 weeks. Two other manure heaps from a second batch of non-treated broilers were composted for 6 weeks via mechanical turning piles after 3 weeks. Temperature monitoring of the four heaps have been achieved. Samples of manure and juice around heaps were collected at 0, 1, 2, 3 and 6 weeks, in order to analyze their physicochemical composition (dry matter, total organic matter and mineral matter, total nitrogen, C / N, total phosphorus, total potassium), and their contents in colistin residues. The presence of colistin residues in manure broiler does not seem to have any impact on the activity of the aerobic flora responsible for composting, as evidenced by the physicochemical composition of the products, as well as the evolution of temperatures. At last, the risk of colistin residue spreading into the environment seems relatively simple to master by heap storage for a few weeks.

INTRODUCTION

La France, qui est l'un des plus importants pays d'élevage, représente le premier marché européen de médicament vétérinaire, dans lequel les antibiotiques constituent la classe thérapeutique la plus utilisée (Chevance et al., 2012). Les filières avicoles font partie des principales productions animales utilisatrices d'antibiotiques d'après le suivi des ventes de médicaments antibiotiques réalisé par l'ANMV, bien qu'une diminution de l'exposition des « volailles » soit observée ces dernières années (Chevance et Moulin, 2014).

Les bactéries du sol possèdent naturellement des déterminants leur permettant de résister aux antibiotiques naturels ou synthétiques utilisés en médecine humaine ou vétérinaire. Il a été montré que l'ensemble des gènes des bactéries du sol qui contribuent à cette résistance (le résistome) est identique ou très semblable au résistome des bactéries isolées chez l'homme ou chez l'animal (Bernier et Surette, 2013), suggérant de fréquents transferts de gènes entre ces compartiments.

Une part importante des quantités de molécules ingérées par les animaux peut être excrétée telle quelle dans les urines et fèces, ou encore sous forme de métabolites ayant potentiellement conservé des propriétés antimicrobiennes (Arikan et al., 2009). L'épandage d'effluents bruts issus d'animaux traités peut donc contribuer à la diffusion d'antibiotiques, de leurs métabolites ou produits de dégradation, dans les différents compartiments de l'environnement (terrestre et aquatique), participant ainsi au maintien ou à la sélection de bactéries résistantes (Kemper, 2008). Les modalités de gestion des effluents jouent ainsi un rôle important dans la constitution d'un réservoir de gènes de résistance, potentiellement transférables vers d'autres bactéries pathogènes de l'homme ou des animaux.

La colistine (antibiotique de la famille des polypeptides) est encore très largement utilisée pour traiter les infections à entérobactéries en élevages avicoles. Malgré l'utilisation fréquente et ancienne de cet antibiotique, l'émergence de la résistance à la colistine est un événement apparemment récent et encore limité comme le montrent les données du réseau de surveillance de la résistance des bactéries pathogènes des animaux en France (RESAPATH) (Jarrige et al., 2014). Or, compte tenu de l'augmentation importante en médecine humaine des échecs thérapeutiques liés aux bactéries multirésistantes, la colistine devient actuellement un antibiotique de dernier recours pour certaines infections (Li et al., 2006). Il est donc primordial de veiller à utiliser de manière raisonnée cette molécule et à limiter autant que faire se peut la diffusion dans l'environnement de bactéries résistantes (Landman et al., 2008).

L'objectif du travail présenté dans cet article est de décrire l'impact d'un traitement antibiotique à base de

colistine sur différentes modalités de gestion d'un fumier de poulet de chair (stockage ou compostage), et notamment l'évolution des températures et de la composition physico-chimique des produits obtenus. Il vise par ailleurs à évaluer la maîtrise de la diffusion des résidus dans l'environnement. Ce travail a été réalisé dans le cadre du projet DECRA, financé par le Ministère de l'Ecologie, du développement Durable et de l'Energie (MEDDE) pour répondre au plan Ecoantibio2017, qui vise plus globalement à évaluer l'impact de l'utilisation des effluents d'élevages potentiellement contaminés par des résidus d'antibiotiques, bactéries résistantes, ou gènes de résistance, sur l'environnement. Une autre communication (Le Devendec et al., JRAPFG 2015) décrit l'impact du traitement des volailles et du mode de gestion du fumier sur la résistance des bactéries fécales ou environnementales.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Schéma expérimental de l'étude

Des poulets de chair à croissance rapide (Ross jaune PM3) ont été élevés dans un bâtiment expérimental de l'Anses Laboratoire Ploufragan-Plouzané (33 jours d'élevage, densité d'environ 19,7 poulets/m²). Ce bâtiment, équipé d'un sol bétonné avec une ventilation dynamique de type extraction haute, est divisé en deux salles séparées par un sas central. Chaque salle mesure environ 420 m², configurée en deux demi-salles de 210 m² (3 parquets de 70 m²) de chaque côté d'un couloir central. Les animaux ont été élevés sur une litière de copeaux de bois non traités, disposée en une seule fois dans le bâtiment avant l'arrivée des poussins, à raison de 4 kg/m².

Les animaux de la **salle 1** n'ont reçu aucun traitement antibiotique. Seuls les animaux de la **salle 2** ont été traités par la colistine durant la dernière semaine d'élevage, et ce pendant cinq jours consécutifs. Au début du traitement les poulets avaient 25 jours d'âge et pesaient en moyenne 1,129 kg. Le traitement a été administré via l'eau de boisson, à la dose thérapeutique (Colivet solution CEVA, 37,5 ml de solution par tonne de poids vif), soit 75000 UI de colistine /kg de poids vif/jour de traitement. Le poids des animaux a été évalué chaque jour du traitement afin de respecter cette posologie. Pendant les 5 jours d'administration du traitement colistine, des prélèvements d'eau de boisson ont été réalisés dans les deux salles d'élevage afin de contrôler les quantités de matière active distribuée aux animaux. Les dosages de colistine ont été réalisés par l'Inserm U-1070 « Pharmacologie des Anti-Infectieux » Pôle Biologie Santé de Poitiers.

La totalité du fumier a été évacuée du bâtiment, et utilisée pour constituer quatre andains de dimensions et poids similaires (9,4 ± 0,4 t, 6 m x 3 m x 1,5 m environ). Deux andains ont été **stockés pendant 6 semaines**, et deux autres ont été **compostés sur la**

même durée. Le compostage a été réalisé par un retournement mécanique au bout de 3 semaines de stockage pour favoriser l'aération du fumier. Ainsi, le dispositif comprenait quatre modalités :

Modalité NTS : andain stocké et constitué du fumier issu d'une demi-salle de la salle 1 (animaux n'ayant pas reçu de traitement antibiotique),

Modalité NTC : andain composté et constitué du fumier issu d'une demi-salle de la salle 1,

Modalité TS : andain stocké et constitué du fumier issu d'une demi-salle de la salle 2 (animaux ayant reçu un traitement antibiotique à base de colistine).

Modalité TC : andain composté et constitué du fumier issu d'une demi-salle de la salle 2.

Le sol situé sous chaque andain a été préalablement recouvert d'une bâche plastique de type bâche ensilage. Les quatre andains ont par ailleurs été recouverts d'une bâche géotextile Toptex en Polypropylène (Ets Gangloff) afin de les protéger des intempéries. Par ailleurs, afin d'éviter les contaminations (résidus d'antibiotiques, bactéries résistantes et gènes de résistance) entre les modalités, le fumier de la salle 1 a été évacué du bâtiment en premier.

1.2. Enregistrement des températures des andains

Les températures des quatre andains ont été enregistrées durant les 6 semaines de suivi, à l'aide de deux dispositifs :

Période 1 : Deux sondes de température de type plongeurs inox SFK (thermocouple type K, KIMO) reliées à un enregistreur autonome Kistock KTT310 (KIMO), ont été positionnées au centre de chaque andain (environ 30 cm de profondeur). Une mesure de température a été réalisée toutes les 15 secondes, avec l'enregistrement d'une mesure moyenne toutes les demi-heures.

Période 2 : 6 fils thermocouples de type K (Radiospa), reliés à un multiplexeur AM416 (Campbell scientifique) et à une centrale d'acquisition de données 21x (Campbell scientifique), ont été positionnés dans chaque andain : 3 thermocouples ont été placés à cœur (environ 1,5 m de profondeur), et 3 thermocouples ont été placés en sub-surface (20 à 50 cm). Une mesure de température a été réalisée toutes les 30 secondes, avec l'enregistrement d'une mesure moyenne toutes les demi-heures.

1.4. Analyses physico-chimiques des échantillons de fumier et de jus d'écoulement

Une première série d'échantillonnages de fumier a été réalisée dans le bâtiment d'élevage, après le départ des animaux pour l'abattoir (Point 0). Pour chaque demi-salle du bâtiment, un pool d'une dizaine de prélèvements répartis sur toute la surface a été constitué. Neuf échantillons de fumier ont ainsi été obtenus pour chaque demi-salle par division successive du pool de prélèvements.

Ensuite, pour les modalités TC et TS, trois séries d'échantillonnage ont été réalisées après 1 semaine, 2 semaines, puis 3 semaines de suivi. Un pool de 28 prélèvements répartis sur toute la longueur de l'andain a été réalisé (12 prélèvements en sub-surface à environ 10 à 20 cm de profondeur, et 16 prélèvements à cœur à environ 1,5 m de profondeur). Des jus d'écoulements ont par ailleurs été prélevés autour de ces andains. Pour chacune des trois séries et pour chaque andain, dix échantillons de fumier ont été obtenus par division successive du pool de prélèvements, ainsi que trois échantillons de jus d'écoulement.

Une dernière série d'échantillonnages a été réalisée sur les quatre andains après 6 semaines de suivi, de la même façon que précédemment. Treize échantillons de fumier ont été obtenus pour les andains TC et TS ; 9 échantillons de fumier ont été obtenus pour les andains NTC et NTS.

La composition physico-chimique a été analysée sur une partie des échantillons de fumier par le laboratoire LABOCEA de Ploufragan : matière sèche selon NF EN 13040 (U 44-406), matière organique totale et matière minérale selon NF EN 13039 (U 44430), azote total par la méthode kjeldahl modifiée selon NF EN 13654-1, C/N par calcul, phosphore total, potassium total, par la méthode ICP selon NF EN ISO 11885 (T 90-136). Des dosages de colistine ont été réalisés sur le reste des échantillons de fumier, ainsi que sur les échantillons de jus d'écoulement par une méthode développée et validée antérieurement par l'Inserm U-1070 « Pharmacologie des Anti-Infectieux » Pôle Biologie Santé de Poitiers (Fleury et al., soumis).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La concentration de la colistine dans l'eau de boisson distribuée aux animaux est en moyenne de $18,8 \pm 2,6$ µg/mL sur les 5 jours d'administration du traitement aux animaux de la salle 2, ce qui correspond à la valeur attendue au regard de la quantité distribuée. Dans la salle 1, la concentration de la colistine dans l'eau de boisson distribuée aux animaux est inférieure à la limite de quantification (LLQ) de la méthode (0,02 µg/mL), ce qui est également conforme au protocole.

Au point P0, la concentration de colistine dosée dans les échantillons de fumier prélevés pour la modalité TC, est en moyenne de $0,33 \pm 0,06$ µg/mL. Cet résultat apparaît relativement faible au regard du parti pris dans le protocole de cette étude, qui a été de tenter de maximiser le risque lié à l'administration de la colistine. Il a ainsi été choisi d'administrer le traitement à la fin de la période d'élevage, afin d'augmenter la quantité totale de colistine administrée aux animaux et de réduire le délai entre administration et récupération des fumiers, bien que cela ne soit pas la situation la plus souvent rencontrée sur le terrain (C. Chauvin, Anses, communication personnelle). Par

la suite cette concentration moyenne de colistine diminue très rapidement lors du stockage du fumier en andain. En effet, après seulement une semaine, la valeur est divisée par 7 environ (tableau 1).

Tableau 1. Concentrations moyennes de colistine (en $\mu\text{g/mL}$) dans les échantillons de fumier

n = nombre d'échantillons	Point 0 (n=6)	Après 1 semaine de stockage (n=10)	Après 2 semaines de stockage (n=10)
Modalité TC	0,33 $\pm$ 0,06	< 0,05 (5 échantillons < LLQ)	< 0,09 (3 échantillons < LLQ)
Modalité NTC	0,17 $\pm$ 0,03	ND	ND

NB : la valeur limite de quantification de la méthode (LLQ) est 0,02 $\mu\text{g/mL}$

ND : non déterminé

De même, la concentration de colistine dans les échantillons de jus d'écoulement prélevés pour la modalité TC diminue très rapidement (inférieure à LLQ dès la 3^{ème} semaine de stockage) (tableau 2).

Tableau 2. Concentrations moyennes de colistine (en $\mu\text{g/mL}$) dans les échantillons de jus d'écoulement

n = nombre d'échantillons	Après 1 semaine de stockage (n=3)	Après 3 semaines de stockage (n=3)	Après 6 semaines de stockage (n=3)
Modalité TC	0,93 $\pm$ 0,23	< LLQ	< LLQ
Modalité NTC	0,23 $\pm$ 0,12	NA	NA

NB : la valeur limite de quantification de la méthode (LLQ) est 0,02 $\mu\text{g/mL}$

ND : non déterminé

Les résultats obtenus dans cet essai semblent cohérents avec ceux obtenus dans plusieurs études similaires (Kempf et al., 2014) qui montrent des cinétiques de réduction d'autres molécules antibiotiques également très rapides (demi-vie entre 1 et 4 jours la plupart du temps, voire 10 jours maximum). Le rôle essentiel des facteurs abiotiques, et en particulier celui de la température, sur la réduction des teneurs en molécules antibiotiques dans les effluents d'élevage, a été démontré par plusieurs de ces auteurs. En effet, la température interviendrait sur leur dégradation, mais aussi sur leur disponibilité, en influençant notamment le phénomène d'adsorption abiotique à la matière organique (Kempf et al., 2014). Pour la modalité NTC, les résultats présentés dans les tableaux 1 et 2 montrent également que des résidus de colistine ont été dosés dans les échantillons de fumiers prélevés au point 0 (0,17 $\pm$ 0,03 $\mu\text{g/mL}$), et dans les jus d'écoulement prélevés après 1 semaine de stockage de l'andain (0,23 $\pm$ 0,12 $\mu\text{g/mL}$). Ces résultats sont surprenants et difficiles à expliquer. Le fumier issu de cette modalité est en effet issu de la salle 1 dans laquelle les animaux n'ont reçu aucun traitement par colistine, ce qui a pu être confirmé par

les dosages réalisés par ailleurs dans les échantillons d'eau de boisson. Des analyses complémentaires devront être réalisées pour tenter d'expliquer ces résultats.

Concernant les autres paramètres physico-chimiques analysés, peu de différences sont observées au point 0 entre les fumiers des quatre modalités (tableau 3). Les résultats obtenus dans cet essai sur ces paramètres physico-chimiques sont comparables avec les valeurs admises pour du fumier de poulets standards (ITAVI, 2003). Après 6 semaines de suivi, la composition physico-chimique des produits obtenus via les modalités NTC et TC répond aux critères de la norme NFU 44-051, relative aux amendements organiques (tableau 3).

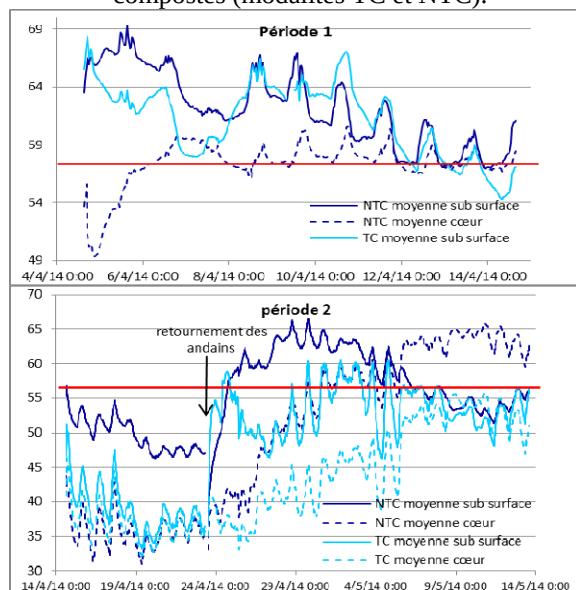
Tableau 3 : Composition physico-chimique des échantillons de fumier prélevés au point 0 et après 6 semaines de stockage (en % de PB).

Période	Modalité	NTS	NTC	TS	TC
Point 0	Matière sèche	47,25 $\pm$ 1,48	52,65 $\pm$ 1,06	48,70 $\pm$ 0,42	51,50 $\pm$ 0,42
	Matière organique	41,05 $\pm$ 1,48	45,60 $\pm$ 1,13	41,70 $\pm$ 0,14	44,20 $\pm$ 0,42
	C/N	10,70 $\pm$ 0,00	12,00 $\pm$ 0,42	10,85 $\pm$ 0,35	11,00 $\pm$ 0,57
	Azote total	1,92 $\pm$ 0,07	1,91 $\pm$ 0,12	1,92 $\pm$ 0,07	2,01 $\pm$ 0,13
	Phosphore total	1,20 $\pm$ 0,00	1,35 $\pm$ 0,07	1,35 $\pm$ 0,07	1,40 $\pm$ 0,00
	Potassium total	1,40 $\pm$ 0,00	1,55 $\pm$ 0,07	1,55 $\pm$ 0,07	1,65 $\pm$ 0,07
	Matière sèche	56,05 $\pm$ 0,92	64,55 $\pm$ 1,63	61,05 $\pm$ 1,48	59,90 $\pm$ 1,98
	Matière organique	47,95 $\pm$ 0,64	55,35 $\pm$ 1,7	52,10 $\pm$ 1,41	50,50 $\pm$ 1,56
	C/N	11,30 $\pm$ 0,14	13,95 $\pm$ 0,3	11,55 $\pm$ 0,07	12,95 $\pm$ 0,07
	Azote total	2,12 $\pm$ 0,00	1,99 $\pm$ 0,11	2,26 $\pm$ 0,07	1,96 $\pm$ 0,05
Après 6 semaines de stockage	Phosphore total	1,60 $\pm$ 0,14	1,85 $\pm$ 0,07	1,50 $\pm$ 0,14	1,80 $\pm$ 0,00
	Potassium total	1,95 $\pm$ 0,07	2,10 $\pm$ 0,00	2,05 $\pm$ 0,21	2,25 $\pm$ 0,07

En outre, durant la première semaine de stockage, les températures des quatre andains s'élèvent rapidement au-dessus de 55°C. Après le retournement mécanique des deux andains TC et NTC, après 3 semaines de stockage, on observe à nouveau une forte élévation des températures mesurées, au-dessus de 55°C (figure 1, période 2). Le renouvellement de l'apport d'oxygène semble donc avoir été suffisant pour relancer le développement de la flore aérobie dont l'activité génère de la chaleur. L'élévation de la température de l'andain TC semble un peu plus lente et moins forte que celle observée pour l'andain du fumier composté issus des animaux non traités (modalité NTC). Il est possible que ce phénomène soit consécutif à une montée en température plus rapide et plus importante en début de stockage (figure 1, période 1), ceci qui aurait pu entraîner un assèchement plus rapide du fumier, pénalisant le

développement de la flore aérobie (perte en eau trop importante).

Figure 1. Evolution des températures des andains compostés (modalités TC et NTC).



Certains auteurs ont également observé des retards dans les cinétiques de montée en température, des niveaux de température atteints plus faibles, une dégradation de la matière organique et de la minéralisation de l'azote moins importante dans des effluents contenant des résidus d'antibiotiques. Leur conclusion est que la présence de ces résidus pourrait influencer de façon négative le développement de la population bactérienne aérobie (moins d'activité respiratoire et réduction des bactéries viables), sans affecter de façon significative le processus de compostage (décomposition organique). Toutefois, les niveaux de concentration d'antibiotiques semblent

constituer un facteur important dans la modulation ou non du processus de compostage (Kempf et al, 2014). Or, les résultats obtenus dans le cadre de ce travail montrent que les concentrations de colistine sont inférieures à 0,02 µg/mL dans tous les échantillons de fumier prélevés lors du retournement de l'andain TC (à 3 semaines). L'impact des résidus de colistine sur le développement de la flore aérobie est sans doute minime dans le cas de cet essai.

Même si des différences sont observées sur les cinétiques d'évolution des températures entre les modalités TC et NTC, le nombre de jours où la température en sub-surface a été supérieure à 55°C est plus élevé que pour leurs témoins stockés respectifs (25 jours pour l'andain NTC vs 8 jours pour l'andain NTS ; 17 jours pour l'andain TC vs 10 jours pour l'andain NTS).

CONCLUSION

Au vu de ces premiers résultats, il semble peu probable que la présence de résidus de colistine dans le fumier de poulet de chair soit susceptible de perturber l'activité de la flore aérobie responsable du compostage. Ainsi, au regard de la réglementation (nombre de jours où la température est supérieure à 55 °C), et au vu de la composition physico-chimique des produits obtenus, nous pouvons considérer que le compostage s'est correctement déroulé pour les deux andains TC et NTC.

Enfin, il est possible de conclure que le risque de diffusion des résidus dans l'environnement suite à l'administration d'un traitement par colistine à un lot de poulet de chair dans des conditions commerciales est peu probable et relativement simple à maîtriser par un stockage en andains de quelques semaines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Jarrige N. et al., 2014. Anses, pp 162.
2. Arikan O., et al. , 2009. Bioresource technology (100), 4447-4453.
3. Bernier S.P. et Surette M.G., 2013. Front Microbiol (4), 20.
4. Chevance A., et Moulin G., 2014. Anses-ANMV, pp73.
5. Chevance A. et al., 2012. Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation, (53) 3-7.
6. Fleury M. A., et al.. soumis à Research in Veterinary Science.
7. ITAVI, 2003. Rapport d'étude OFIVAL, pp41.
8. Kemper N., 2008. Ecological Indicators (8), 1-13.
9. Kempf I., et al., 2014. Techniques et Marchés Avicoles, (32) in press.
10. Landman D., et al. 2008. Clinical microbiology reviews (21), 449-65.
11. Li J, et al.,. 2006. Lancet Infect Dis. 6 (9), 589-601.

IMPACT D'UN TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE A BASE DE COLISTINE SUR LE COMPOSTAGE DES FUMIERS ET LA MAITRISE DE LA DIFFUSION DES RESIDUS DANS L'ENVIRONNEMENT

Rousset Nathalie¹, Galliot Pascal¹, Tavares Manuel², Couet William³, Gobin Patrice³, Keita Alassane², Aubert Claude¹, Kempf Isabelle⁴

¹ ITAVI – Antenne Ouest, 41 rue de Beaucemaine – 22440 PLOUFRAGAN

² ANSES Laboratoire de Ploufragan-Plouzané – Service d'Élevage et d'Expérimentation Avicole et Cunicole-UMT SANIVOL, BP53 – 22440 PLOUFRAGAN

³ Inserm U-1070 « Pharmacologie des Anti-Infectieux » Pôle Biologie Santé, secteur alpha, niveau 2 – 1 rue Georges Bonnet, BP633 – 82022 POITIERS cedex

⁴ ANSES Laboratoire de Ploufragan-Plouzané – Unité de mycoplasmatologie bactériologie, BP 53 – 22440 PLOUFRAGAN



CONTEXTE ET OBJECTIFS

Une part importante des quantités de molécules ingérées par les animaux peut être excrétée telle quelle dans les urines et fèces, ou encore sous forme de métabolites ayant potentiellement conservé des propriétés antimicrobiennes (Arikan et al., 2009). L'épandage d'effluents bruts issus d'animaux traités peut donc contribuer à la diffusion d'antibiotiques, de leurs métabolites ou produits de dégradation, dans les différents compartiments de l'environnement (terrestre et aquatique), participant ainsi au maintien ou à la sélection de bactéries résistantes (Kemper, 2008). Les modalités de gestion des effluents jouent ainsi un rôle important dans la constitution d'un réservoir de gènes de résistance, potentiellement transférables vers d'autres bactéries pathogènes de l'homme ou des animaux.

L'objectif de ce travail est de:

- décrire l'impact d'un traitement antibiotique à base de colistine sur différentes modalités de gestion d'un fumier de poulet de chair (stockage ou compostage),
- évaluer la maîtrise de la diffusion des résidus dans l'environnement.

MATERIELS ET METHODES

Des poulets de chair à croissance rapide (Ross jaune PM3) ont été élevés dans deux salles d'un bâtiment expérimental de l'Anses Laboratoire Ploufragan-Plouzané (33 jours d'élevage, densité d'environ 19,7 poulets/m²).

salle 1: les animaux n'ont reçu aucun traitement antibiotique.

salle 2: les animaux ont été traités par la colistine durant la dernière semaine d'élevage, et ce pendant cinq jours consécutifs, soit 75000 UI de colistine /kg de poids vif/jour de traitement.

Deux andains de fumier issus de la phase d'élevage ont été stockés pendant 6 semaines (modalité NTS : non traitée stocké, et TS: traité colistine stocké)

Deux autres ont été compostés sur la même durée (modalités NTC: non traité composté et TC: traité colistine composté)

Les températures des quatre andains ont été enregistrées durant les 6 semaines de suivi,

Echantillonnages de fumier

- Point 0: pour les 4 modalités, dans le bâtiment d'élevage,
- Après 1 semaine, 2 semaines, puis 3 semaines : pour les andains TC et TS, trois séries d'échantillonnage ont été réalisées. Des jus d'écoulements ont par ailleurs été prélevés autour de ces deux andains.
- Après 6 semaines de suivi: pour les quatre andains

La composition physico-chimique a été analysée sur une partie des échantillons de fumier par le laboratoire LABOCEA de Ploufragan. Des dosages de colistine ont été réalisés sur le reste des échantillons de fumier, ainsi que sur les échantillons de jus d'écoulement.

RESULTATS

Tableau 1. Concentrations moyennes de colistine (en µg/mL) dans les échantillons de fumier

NB : la valeur limite de quantification de la méthode (LLQ) est 0,02 µg/mL

ND : non déterminé

n = nombre d'échantillons	Point 0 (n=6)	Après 1 semaine de stockage (n=10)	Après 2 semaines de stockage (n=10)
Modalité TC	0,33 ± 0,06	< 0,05 (5 échantillons < LLQ)	< 0,09 (3 échantillons < LLQ)
Modalité NTC	0,17 ± 0,03	ND	ND

Tableau 2. Concentrations moyennes de colistine (en µg/mL) dans les échantillons de jus d'écoulement

NB : la valeur limite de quantification de la méthode (LLQ) est 0,02 µg/mL

ND : non déterminé

n = nombre d'échantillons	Après 1 semaine de stockage (n=3)	Après 3 semaines de stockage (n=3)	Après 6 semaines de stockage (n=3)
Modalité TC	0,93 ± 0,23	< LLQ	< LLQ
Modalité NTC	0,23 ± 0,12	NA	NA

Durant la première semaine de stockage, les températures des quatre andains s'élèvent rapidement au-dessus de 55°C. Après le retournement mécanique des deux andains TC et NTC, après 3 semaines de stockage, on observe à nouveau une forte élévation des températures mesurées, au-dessus de 55°C (figure 1, période 2).

Le renouvellement de l'apport d'oxygène semble donc avoir été suffisant pour relancer le développement de la flore aérobie dont l'activité génère de la chaleur.

L'élévation de la température de l'andain TC semble un peu plus lente et moins forte que celle observée pour l'andain du fumier composté issus des animaux non traités (modalité NTC).

Deux explication sont possible:

- ce phénomène est consécutif à une montée en température plus rapide et plus importante en début de stockage (figure 1, période 1), ceci qui aurait pu entrainer un assèchement plus rapide du fumier, pénalisant le développement de la flore aérobie (perte en eau trop importante).
- La présence de résidus d'antibiotique pourrait influencer de façon négative le développement de la population bactérienne aérobie sans affecter de façon significative le processus de compostage . Toutefois, les résultats des dosage de colistine montrent des concentrations inférieures à 0,02 µg/mL. L'impact des résidus de colistine sur le développement de la flore aérobie est sans doute minime dans le cas de cet essai.

Même si des différences sont observées sur les cinétiques d'évolution des températures entre les modalités TC et NTC, le nombre de jours où la température en sub-surface a été supérieure à 55°C est plus élevé que pour leurs témoins stockés respectifs.

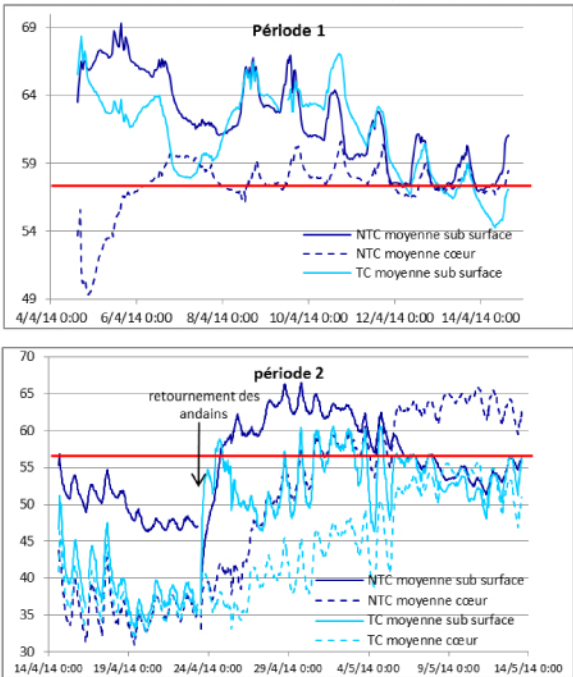
Au point P0, la concentration de colistine dosée dans les échantillons de fumier prélevés pour la modalité TC, est en moyenne de 0,33 ± 0,06 µg/mL.

Par la suite, la concentration moyenne de colistine diminue très rapidement lors du stockage du fumier en andain. En effet, après seulement une semaine, la valeur est divisée par 7 environ (tableau 1).

Les résultats obtenus dans cet essai semblent cohérents avec ceux obtenus dans plusieurs études similaires (Kempf et al., 2014) qui montrent des cinétiques de réduction d'autres molécules antibiotiques également très rapides.

Le rôle essentiel des facteurs abiotiques, et en particulier celui de la température, sur la réduction des teneurs en molécules antibiotiques dans les effluents d'élevage, a été démontré par plusieurs de ces auteurs (Kempf et al., 2014).

Figure 1. Evolution des températures des andains compostés (modalités TC et NTC).



CONCLUSIONS

Au vu de ces premiers résultats, il semble peu probable que la présence de résidus de colistine dans le fumier de poulet de chair soit susceptible de perturber l'activité de la flore aérobie responsable du compostage. Ainsi, au regard de la réglementation (nombre de jours où la température est supérieure à 55 °C), et au vu de la composition physico-chimique des produits obtenus, nous pouvons considérer que le compostage s'est correctement déroulé pour les deux andains TC et NTC.

Enfin, il est possible de conclure que le risque de diffusion des résidus dans l'environnement suite à l'administration d'un traitement par colistine à un lot de poulet de chair dans des conditions commerciales est peu probable et relativement simple à maîtriser par un stockage en andains de quelques semaines.

Ce travail a été réalisé dans le cadre du projet DECRA, financé par le Ministère de l'Écologie, du développement Durable et de l'Énergie (MEDDE) pour répondre au plan Ecoantibio2017

Onzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, les 25 et 26 mars 2015

