



HAL
open science

Utiliser mieux et moins les produits de désinfection en filières avicole et piscicole

Nathalie Rousset, Azziza Ait Ahmed, Loïc Balaine, Antoine Battaglia, Benoît Berlizot, Arnaud Bridier, Patrice Carpentier, Laurent Deffreix, Victor Dumas, Pascal Galliot, et al.

► To cite this version:

Nathalie Rousset, Azziza Ait Ahmed, Loïc Balaine, Antoine Battaglia, Benoît Berlizot, et al.. Utiliser mieux et moins les produits de désinfection en filières avicole et piscicole. *Innovations Agronomiques*, 2024, 94, pp.115-126. 10.17180/ciag-2024-vol94-art08 . hal-04601631

HAL Id: hal-04601631

<https://hal.inrae.fr/hal-04601631>

Submitted on 5 Jun 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License



Utiliser mieux et moins les produits de désinfection en filières avicole et piscicole

Nathalie ROUSSET ¹, Azziza AIT AHMED ², Loïc BALAINE ³, Antoine BATTAGLIA ¹, Benoît BERLIZOT ⁴, Arnaud BRIDIER ², Patrice CARPENTIER ⁵, Laurent DEFFREIX ⁶, Victor DUMAS ¹, Pascal GALLIOT ¹, Gildas GRIVEAU ⁷, Aurélie HANIN ⁸, Adeline HUNEAU ², Lucile KOT ¹, Patricia LE GRANDOIS ², Sophie LE BOUQUIN-LENEUVEU ², Delphine LEVERT ⁸, Marion PERTUSA ¹, Claire RIOLLAND ⁷, Marion RUCH ⁹, Christophe SOUMET ³, Aurélien TOCQUEVILLE ¹, Rodolphe THOMAS ², Angélique TRAVEL ¹, Claire VAN CUICK ¹⁰

¹ITAVI, 7 rue du Faubourg Poissonnière, 75009, Paris, France

²Anses, Agence Nationale Sécurité Sanitaire Alimentaire Nationale, Laboratoire de Fougères, Bâtiment Bioagropolis, 10B Rue Claude Bourgelat, 35133 Javené, France

³Anses, Agence Nationale Sécurité Sanitaire Alimentaire Nationale, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané Niort, 22440 Ploufragan, France

⁴Lycée d'Enseignement Général et Technologique Agricole Quimper-Bréhoulou, 3 chemin de Kernoac'h, 29 170 Fouesnant, France

⁵Anses, Agence Nationale Sécurité Sanitaire Alimentaire Nationale, Direction de l'évaluation des produits réglementés, 14 rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort Cedex, France

⁶SNGTV, Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires, 5 Rue Moufle, 75011 Paris, France

⁷MSA d'Armorique, La sécurité sociale agricole, 12 rue de Paimpont, 22025 Saint-Brieuc Cedex 1, France

⁸ACTALIA, Sécurité des Aliments, 310 rue Popielujko, 50 000 Saint-Lô, France

⁹Chambre d'agriculture de Bretagne, Cométias 6 rue de Ronsouze - BP24, 56801 Ploërmel, France

¹⁰CIPA, Comité Interprofessionnel des Produits de l'Aquaculture, 32 rue de Paradis 75010 Paris, France

Correspondance : rousset@itavi.asso.fr

Résumé

Les désinfectants sont indispensables à la maîtrise sanitaire. Néanmoins, leur manipulation peut être à l'origine d'accidents ponctuels ou d'effets chroniques sur la santé humaine si des mesures de prévention et/ou protection ne sont pas prises. L'enquête réalisée, conduite dans le projet aDAPt auprès de 108 entreprises (couvoirs, abattoirs, élevage de poulets et canards, piscicultures), souligne qu'une part non négligeable de situations sont à risque élevé pour la santé, en particulier pour les éleveurs avicole et pisciculteurs. La mise en place de stratégies de prévention est donc à prioriser pour le maillon élevage, d'autant plus que la sensibilisation, l'information et la formation y est moins soutenue (collectif de travail plus réduit par entreprise, mobilisation des éleveurs plus difficile sur ces sujets...). La professionnalisation des éleveurs quant aux bonnes pratiques de manipulations du matériel (notamment canons à mousse, les plus utilisés) et des produits (protection des yeux, de la peau, des voies respiratoires, aération des locaux...) est à renforcer à la fois pour protéger leur santé, celle des consommateurs et celle de l'environnement, mais aussi garantir l'efficacité de la désinfection. L'utilisation d'alternatives ou méthodes complémentaires permettant d'utiliser moins de désinfectant est aussi une piste qui a été explorée dans le projet : l'utilisation de flores de barrière ou détergents enzymatiques semble des méthodes complémentaires prometteuses.

Mots-clés : biocide, aviculture, pisciculture, flore de barrière, détergent enzymatique

Abstract: Better and less use of disinfectants in fish and poultry supply chains



Disinfectants are essential for sanitary control. Nevertheless, their handling can be the cause of one-off accidents or chronic effects on human health if prevention and/or protection measures are not taken. The survey carried out in the ADAPT project among 108 companies (hatcheries, slaughterhouses, chicken and duck farms, fish farms) emphasises that a significant proportion of situations involves a high health risk, particularly for poultry and fish farmers. The implementation of prevention strategies should therefore be prioritised for the livestock sector, especially as awareness, information and training are less sustained there (smaller group of workers per company, more difficult to mobilise farmers on these subjects, etc.). The professionalization of farmers in terms of good practices for handling equipment (especially foam guns, which are most commonly used) and products (protection of the eyes, skin, respiratory tract, ventilation of the premises, etc.) must be reinforced in order to protect their health, the health of consumers and the environment, but also to guarantee the efficacy of disinfection. The use of alternatives or complementary methods making possible to use less disinfectant has been explored in the project: the use of barrier flora or enzymatic detergents seems to be a promising complementary method.

Keywords: biocide, poultry production, fish production, barrier flora, enzymatic detergent

1 Introduction

Les crises d'Influenza aviaire ont démontré l'importance d'une observance rigoureuse et pérenne de la décontamination des infrastructures et des matériels utilisés pour l'élevage mais également pour le transport des animaux (Huneau-Salaün et al. 2017 ; Scoizec et al., 2017). L'optimisation des protocoles de nettoyage et désinfection est un point essentiel. La présence de souillures organiques et l'organisation des microorganismes en biofilms (communautés de microorganismes adhérant sur des surfaces et produisant une matrice extracellulaire qui joue un rôle protecteur vis-à-vis des agressions physico-chimiques, Bridier et al., 2011), nécessitent l'application régulière et massive des biocides. Néanmoins, la manipulation des désinfectants peut être à l'origine d'accidents ponctuels si des mesures de protection ne sont pas prises. De nombreuses substances sont susceptibles d'être corrosives ou irritantes pour la peau, les muqueuses oro-rhino-laryngées et bronchiques (ex : ammoniums quaternaires, agents chlorés, acide peracétique), de provoquer des pathologies respiratoires (ex : aldéhydes), des allergies cutanées (ex : glutaraldéhyde, ammoniums quaternaires) (Abadia et al., 2003 ; Sanderson et al., 1995 ; Massin et al., 2007).

Les désinfectants font partie des biocides soumis à la réglementation européenne (règlement UE n° 528/2012) qui vise à assurer un niveau élevé de protection de la santé humaine et animale, et celle de l'environnement. Actuellement, les produits contenant ces substances font l'objet d'une évaluation complète pour chaque usage dédié. Beaucoup de produits utilisés en aviculture sont à ce jour sous un régime d'autorisation « transitoire », et il est fort probable que la variété de produits mis sur le marché tende à se réduire du fait d'exigences réglementaires plus fortes, et du développement limité de nouveaux produits.

Dans ce contexte, des méthodes complémentaires telles que l'application de flores de barrière ou l'utilisation de détergents enzymatiques peuvent être envisagées. Les flores de barrière peuvent être exploitées dans l'industrie alimentaire (ateliers de production et de transformation) mais également en élevage pour contrôler l'écologie des surfaces et ainsi limiter l'implantation d'agents pathogènes. Elles peuvent être administrées directement aux animaux sous forme de probiotiques via leur alimentation ou dans l'eau de boisson. Les flores de barrière peuvent agir de différentes façons : i) par la colonisation d'une surface cible par les bactéries dites positives empêchant ainsi les pathogènes de s'implanter. Cette barrière physique crée une compétition pour l'espace et pour les ressources nutritionnelles; ii) par la production de composés inhibiteurs (acides organiques ou des bactériocines). La flore de barrière peut être également appliquée par pulvérisation dans l'élevage afin d'éviter une contamination des animaux par contact avec les surfaces. La croissance de cette flore ajoutée volontairement se fait alors sous forme de biofilm dans l'environnement direct des animaux et limite l'implantation et le développement ultérieur



de biofilms pathogènes. Contrairement à l'action curative du biocide, le biofilm formé par la flore de barrière peut représenter une stratégie préventive, en empêchant l'implantation des pathogènes. Les détergents enzymatiques quant à eux sont associés à la chimie verte car leur pH est neutre et ils sont constitués de composés naturels, biodégradables et de faible toxicité (Tsiaprazi-Stamou et al., 2019). Ils contiennent généralement des tensioactifs et un mélange d'enzymes dont l'activité cible la matrice extracellulaire des biofilms : protéases, lipases, amylases mais aussi cellulases, polysaccharides dépolymérasés, alginate lyases, dispersines et DNAsés (Bridier et al., 2015). Différents travaux à visée médicale ou agroalimentaire ont montré que l'utilisation de détergents enzymatiques permettait d'éliminer en partie les biofilms lors de la phase de nettoyage et de les fragiliser pour l'étape de désinfection subséquente (Delhalle et al., 2020; Tsiaprazi-Stamou et al., 2019).

De plus en plus de flores de barrière commerciales sont disponibles sur le marché et vendues sous différentes formes. Elles sont composées de consortia microbiens incluant majoritairement des bactéries lactiques et/ou du genre *Bacillus*. Leur utilisation tend à se développer dans la filière avicole, même si leur efficacité réelle reste mal évaluée et leur mécanisme d'action peu compris. De même pour les détergents enzymatiques, si ces nouvelles formulations sont de plus en plus utilisées, avec succès, en industrie agroalimentaire (surfaces ouvertes ou fermées), leur efficacité dans un contexte d'élevage avicole reste à démontrer.

Le projet aDAPt s'est donc intéressé à la question de la prévention des risques liés à l'exposition aux biocides de type désinfectant, des travailleurs en filière avicole et piscicole en France, en répondant aux objectifs suivants : (i) Mieux connaître et comprendre les attitudes des utilisateurs de biocide de type désinfectant par une approche systémique de leurs pratiques, (ii) Identifier les situations de pratiques d'utilisation les plus préoccupantes vis-à-vis des risques pour la santé humaine, (iii) Acquérir de nouvelles connaissances et fournir des outils de sensibilisation pour faire évoluer les pratiques d'utilisation vers des méthodes permettant d'utiliser mieux et moins ces intrants chimiques. La suite de cet article présente les résultats les plus marquants obtenus dans le cadre du projet.

1 Matériels et méthodes

1.1 Bilan des pratiques d'utilisation des désinfectants et évaluation des risques pour la santé humaine

Pour la filière avicole, 78 enquêtes ont été conduites auprès de 12 couvoirs (Bretagne, Centre-Val de Loire, Nouvelle Aquitaine, Pays-de-la-Loire), 25 élevages de poulets de chair (Bretagne), 19 ateliers de gavage (Bretagne et Nouvelle Aquitaine), 6 élevages de canards prêt à engraisser (Nouvelle Aquitaine) et 16 abattoirs (Bourgogne-Franche Comté, Bretagne, Centre-Val de Loire, Grand-Est, Nouvelle Aquitaine, Occitanie, Pays-de-la Loire). En parallèle, 30 piscicultures ont été enquêtées.

Le logiciel « Système d'évaluation et d'information sur les risques chimiques en milieu professionnel » (Seirich, <http://www.seirich.fr/seirich-web/index.xhtml>) a permis de réaliser des évaluations des risques dits « résiduels » par inhalation et par contact cutané ou oculaire. A noter que le port d'équipements de protection individuelle (EPI) n'est pas pris en compte dans ces évaluations. Cette évaluation est réalisée au niveau de la tâche de travail journalière et permet donc d'évaluer un niveau de risque à chaque fois qu'une manipulation de produit est réalisée. Le résultat est donné selon un classement en 3 niveaux : faible, modéré, élevé.

L'activité de l'entreprise y est découpée en zones de travail, dans lesquelles le manipulateur dispose des ressources matérielles lui permettant d'effectuer différentes tâches. Afin de comparer les résultats obtenus dans chaque entreprise, la zone de travail a été définie dans cette étude, comme étant une opération du processus de production nécessitant la manipulation d'un produit désinfectant (ex : « désinfection des camions »). Des informations ont été recueillies pour caractériser le renouvellement



de l'air dans l'environnement de travail dans ces zones et les dispositifs de captage éventuellement présents (ex : hotte d'aspiration).

Plusieurs tâches peuvent ensuite être identifiées au sein de chaque zone (ex : appliquer un produit, doser, remplir le réservoir). Le matériel utilisé (ex : pompe doseuse, canon à mousse) et le procédé (ex : remplissage par versement d'un produit directement à la main depuis le bidon, actionnement d'un dispositif à distance pour le déclenchement de l'appareil) ont été modélisés dans le logiciel par des « types de procédé » s'appuyant sur le guide européen d'évaluation des risques des substances chimiques nouvelles (European Commission – Joint Research Centre - Institute for Health and Consumer Protection - European Chemicals Bureau (ECB), 2003) et des « types de scénario cutané et de surface exposée » (Bertrand et al., 2020).

Enfin, un inventaire complet des spécialités commerciales utilisées pour chaque tâche a été réalisé (plusieurs produits peuvent être utilisés pour une même tâche), en collectant les caractéristiques physicochimiques, les mentions de dangers et d'avertissement, les conseils de prudence, les pictogrammes à l'aide des fiches de données sécurité (FDS) et la consommation de produit.

1.2 Capacité de flores de barrière à limiter l'implantation et le développement de *Salmonella Typhimurium*

Trois flores de barrière commerciales (F1, F2, F3) constituées de *Bacillus sp.* et de bactéries lactiques, mais de formulations différentes ont été étudiées. Sous forme de poudre, elles sont remises en suspension dans l'eau du réseau puis dénombrées sur milieux TSAYE (gélose Trypticase-Soja supplémentée avec de l'extrait de levure).

Salmonella enterica sérotype *Typhimurium* ATCC14028 (*S. Typhimurium* isolée à partir de foie de poulet) a été choisie comme modèle de bactérie pathogène de la filière avicole. Des suspensions sont préparées par 3 repiquages successifs en bouillon TSBYE (Bouillon Trypticase-Soja supplémentée avec de l'extrait de levure) avant dénombrement sur milieu TSAYE.

Cinq produits commerciaux représentatifs des grandes familles de produits chimiques les plus utilisées d'après les données collectées dans le cadre de l'action 1 du projet aDAPt (cf. §1.1 de cet article) ont été sélectionnés. Ils appartiennent à la famille des ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes (A), des chlorés (B), des peracides (C), des phénolés (D) et du monopersulfate (E).

Les coupons de polyéthylène (PE, GoodFellow, Lille, dimensions : 20 x10 x1 mm), matériau présent dans les différents maillons de la filière avicole, sont trempés pour dégraissage sous agitation dans de l'éthanol pur (30 min) puis rincés 5 fois avec de l'eau osmosée. Puis, ils sont désinfectés par trempage dans de l'éthanol 70 % (5 min) puis dans l'eau osmosée (10 min) avant d'être séchés. Ils sont conservés stérilement dans une boîte de Petri avant utilisation.

L'implantation des flores de barrière sur des coupons PE a été évaluée :

- avant traitement par le désinfectant pour caractériser leur développement et
- après traitement pour évaluer l'effet rémanent potentiel du désinfectant sur les flores de barrière.

Les flores de barrière sont tout d'abord préparées dans de l'eau du réseau stérilisée. Elles sont ensuite déposées sur les coupons PE (dépôt de 10^4 à 10^5 Unités Formant Colonies (UFC) par cm^2). Les concentrations (0,8-1 %) et les temps de contact (20-30 min) appliqués pour le traitement biocide sont en accord avec les préconisations du fournisseur. Pour l'effet rémanent, les coupons traités avec le biocide sont séchés à l'air libre de 18 h à 72h avant d'être mis en contact avec les flores de barrière. Le dénombrement des flores de barrière est réalisé sur une gélose TSAYE. Afin de tester le potentiel des flores, à des concentrations plus élevées, à inhiber l'implantation et le développement du pathogène, les conditions de culture des flores sur coupons ont été modifiées, en testant l'effet de l'apport de matière organique sur la charge par cm^2 de flores de barrière obtenue.



Pour cela, les flores ont été cultivées soit en présence de TSBYE, soit dans l'eau du réseau supplémentée avec des fientes lyophilisées (substrat organique riche retrouvé sur le site d'élevage, 20 g pour 100 g d'eau, pH : 5,3) ou en TSBYE.

Des essais d'inhibition de *S. Typhimurium* par les flores de barrière ont ensuite été réalisés. Pour ce faire, les flores de barrière sont déposées sur les coupons PE ($\sim 4-5 \log_{10}$ (UFC/cm²)) et incubées 24h à 48h à 25°C. Puis, une suspension de *S. Typhimurium* ($\sim 4 \log_{10}$ (UFC/cm²)) mélangée avec des fientes pour simuler des conditions réelles de contamination, est ajoutée sur le coupon, lequel est incubé de nouveau 24-48h à 25°C. Après rinçage des coupons avec l'eau du réseau, les bactéries sont décrochées des coupons à l'aide d'ultra-sons avant d'être dénombrées. Pour évaluer l'inhibition de *Salmonella* par les flores de barrière, un dénombrement de *Salmonella* sur une gélose sélective Mc Conkey (24h 37°C) est réalisé en comparaison à un coupon conditionné avec de l'eau du réseau (témoin sans flore) au lieu de la flore de barrière.

1.3 Capacité des détergents enzymatiques à lutter contre les biofilms d'*Escherichia coli*

Sur la base d'une enquête menée auprès des professionnels de la filière avicole, de fournisseurs et de vétérinaires, 4 produits commerciaux qualifiés de détergents enzymatiques ont été sélectionnés. D'après leurs fiches techniques, tous ces détergents contiennent des tensio-actifs additionnés de 2 ou 3 types d'enzymes (amylases et protéases pour le produit D ; amylases, protéases et lipases pour les produits A, B et C). En guise de contrôle, de l'eau du réseau a été utilisée comme détergent témoin.

La souche *E. coli* DSM682, largement utilisée pour valider l'efficacité des désinfectants, a été sélectionnée afin d'établir des biofilms. Cette souche est cultivée en bouillon TSBYE et dénombrée sur milieu gélosé TSAYE. Les coupons (20 x 10 x 1 mm) en acier inoxydable 304L (EML, La Hague) et en polyéthylène (GoodFellow, Lille), sont dégraissés dans de l'éthanol absolu pur pendant 30 min puis rincés 5 fois dans 50 ml d'eau osmosée stérile. Ils sont ensuite désinfectés dans de l'éthanol à 70 % pendant 5 min et rincés dans l'eau osmosée stérile pendant 10 min. Toutes ces étapes sont réalisées sous agitation. Les coupons sont ensuite séchés et conservés stérilement jusqu'à utilisation. Pour la préparation des biofilms, des fientes de poulet sont reconstituées en hydratant 20 g de lyophilisat avec 100 g d'eau distillée stérile (pH = 5,96) puis stérilisées à 121°C pendant 15 minutes. Quarante microlitres de fientes réhydratées sont déposés sur les coupons. Après une heure d'incubation à 25°C, 40 µl d'une solution d'*E. coli* calibrée à 1×10^8 UFC/ml est ajoutée sur le coupon (des essais préliminaires ont permis de définir le niveau de dilution nécessaire pour obtenir une concentration de 1×10^8 UFC/ml environ à partir d'une pré-culture de 16 h en TSBYE). Les coupons sont ensuite placés dans des boîtes de Petri stériles dans une étuve à 25°C pendant 5 jours en condition humide. Avant analyse ou traitement, les biofilms sont rincés à deux reprises avec de l'eau physiologique puis placés dans des tubes en verre contenant 10 ml d'eau physiologique stérile. Les cellules bactériennes adhérentes sont décrochées des supports à l'aide d'ultrasons à 35 kHz pendant 2 min (Sonicateur Elma S120H, Elmasonic) avant d'être dénombrées par ensemencement d'une série de dilutions décimales en surface de géloses TSAYE.

Les détergents ont été appliqués sur les biofilms préalablement séchés à 37°C pendant 1 heure. Cette étape de séchage entraîne une réduction de l'ordre de $0,5 \log_{10}$ de la population de *E. coli* sur le support (données non montrées). Les coupons sont recouverts de détergent à la concentration d'emploi. Les coupons sont ensuite prélevés et rincés 2 fois dans de l'eau du réseau urbain stérile. Les produits ont été utilisés avec les concentrations et temps de contact indiqués dans la fiche technique du fournisseur. Tous les détergents enzymatiques ont ainsi été utilisés à 2 % après dilution dans de l'eau du réseau stérile. Le temps de contact est de 20 min pour le détergent B contre 30 min pour les produits A, C et D.

Un désinfectant à base d'ammonium quaternaire et de glutaraldéhyde a été appliqué sur les biofilms résiduels en aval du traitement détergent. Le désinfectant a été utilisé à une concentration sub-létale (dose d'emploi divisée par 5) pour que l'effet synergique d'un détergent enzymatique dans un protocole combinant détergence et désinfection puisse être quantifié. Chaque modalité expérimentale a été répétée



au moins 3 fois. Les résultats présentés (cf. 3.7 et 3.8) sont les moyennes des différents réplicas et leurs écarts-types calculés dans des feuilles de calcul Excel. Le test de Kruskal-Wallis a été appliqué avec l'aide du logiciel XLSTAT pour déterminer la significativité des différences entre les modalités, avec un risque alpha de 0,05.

2 Principaux résultats obtenus dans le projet aDAPt

2.1 Familles de produits désinfectants utilisés dans les différents types d'entreprises

Pour la filière avicole, la famille des ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes est la plus utilisée quel que soit le type d'entreprise (Tableau 1). Il s'agit exclusivement de produits contenant du glutaraldéhyde. Certains éleveurs ont expliqué *a posteriori* qu'ils pouvaient utiliser à l'occasion (1 fois par an) un produit contenant du formaldéhyde (classé comme cancérigène, mutagène et toxique pour la reproduction (CMR) de catégorie 1B). Dans ce cas, ils font appel à une entreprise de prestation, ce qui peut expliquer qu'ils n'ont pas pensé à le mentionner lors de l'inventaire réalisé pour l'enquête.

Pour les piscicultures, la famille de produits chlorés est très utilisée (27 % des produits recensés) au même titre que celle des ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes (22 % des produits recensés).

Tableau 1 : Principales familles des produits désinfectants pour chaque type d'entreprise

Famille de produits	Abattoirs	Couvoirs	Producteurs de canards	Elevages de poulets de chair	Piscicultures
Ammoniums quaternaires associés à un aldéhyde	56 %	44 %	74 %	50 %	22%
Bases	0 %	0 %	17 %	26 %	3 %
Ammoniums quaternaires	7 %	19 %	0 %	1 %	0 %
Phénolés	0 %	6 %	3 %	9 %	1 %
Acide glycolique	0 %	3 %	0 %	12 %	1 %
Acide peracétique	5 %	8 %	0 %	0 %	7 %
Chlorés	14 %	3 %	0 %	0 %	27 %
Amines	14 %	2 %	0 %	0 %	0 %
Peroxyde d'hydrogène	0 %	6 %	0 %	0 %	16 %
Aldéhydes	0 %	0 %	0 %	0 %	14 %

2.2 Évaluation des risques résiduels dans les différents types d'entreprises

Les producteurs de canards, ainsi que les élevages de poulets de chair présentent une part importante de tâches avec un niveau élevé de risque résiduel par inhalation (respectivement 76 % et 55 % des tâches évaluées pour ces types d'entreprises). Cela peut s'expliquer par des utilisations plus fréquentes d'ammoniums quaternaires associés à des aldéhydes (surtout pour les producteurs de canards), conjugués à des procédés dispersifs très fréquents en élevages (canons à mousse ou lances de



pulvérisation, épandeurs à engrais pour la désinfection des abords et parcours, brumisation, nébulisation et fumigation). Les producteurs de canards présentent par ailleurs une part importante de tâches avec un niveau élevé de risque résiduel par contact cutané ou oculaire (79 % des tâches évaluées pour ce type d'entreprise), ce qui est à mettre en lien avec la part très importante de tâches avec des procédés possiblement générateurs d'éclaboussures ou d'aérosols. Les procédés sans contact possible sont plus fréquents en élevages de poulets de chair que chez les producteurs de canards, ce qui se traduit par une part moins importante de tâches avec un niveau élevé de risque résiduel par contact cutané ou oculaire (42 % des tâches évaluées pour ce type d'entreprise).

Pour les piscicultures, le niveau de risque résiduel par inhalation est élevé dans 45 % des tâches évaluées, et pour le risque cutané/oculaire, il est élevé dans 51 % des tâches évaluées.

En couvoirs et en abattoirs, la part des tâches présentant un niveau élevé de risque résiduel par inhalation élevé est plus modeste, en comparaison aux élevages (respectivement 29 % et 35 % des tâches évaluées pour ces types d'entreprise). Ceci peut s'expliquer en partie par l'utilisation de procédés clos et/ou clos mais ouvert régulièrement (utilisation de pompes doseuses, ou de machines de type laveuse de caisses) plus fréquent dans ces entreprises qu'en élevage, et des utilisations plus fréquentes de familles de produits moins exposantes (en particulier pour les couvoirs).

Les procédés clos sont plus fréquents en couvoirs et en abattoirs que chez les producteurs de canards et de poulets de chair, ce qui contribue à une plus faible proportion de tâches avec un niveau élevé de risque résiduel par contact cutané ou oculaire (respectivement 28 % et 40 % des tâches évaluées pour ces types d'entreprises). A noter cependant l'utilisation relativement fréquente d'agents chlorés en abattoirs qui engendre un risque résiduel cutané et oculaire élevé.

2.3 Efficacité de l'inhibition de *S. Typhimurium* par les flores de barrière

La Figure 1 présente les quantités de *S. Typhimurium* dénombrées en fonction des différentes flores de barrières préparées tout d'abord dans de l'eau du réseau stérilisée (ou sur le témoin sans flore) à 24h ou 48h après inoculation du pathogène.

Les résultats obtenus dans ces essais montrent qu'à ces niveaux de concentrations, soit entre 4,50 et 5,13 \log_{10} (UFC/cm²), les flores barrières ne permettent pas une diminution de la quantité de *S. Typhimurium* dénombrée pour les 3 flores testées en comparaison du coupon témoin sans flore. Au contraire, *S. Typhimurium* parvient à se développer pour atteindre environ 7 \log_{10} (UFC/cm²) dès 24h après inoculation, ces quantités ne variant pas significativement après 48h.

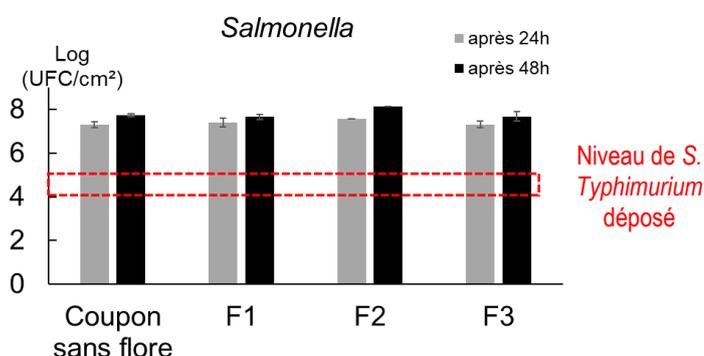


Figure 1 : Quantités de *S. Typhimurium* (en log (UFC/cm²)) dénombrées après 24h ou 48h après inoculation du pathogène sur des coupons colonisés par les flores de barrières F1, F2 et F3 développées dans l'eau du réseau en comparaison d'un coupon PE sans flore (témoin).



Les essais conduits ensuite à partir de flores cultivées en présence de TSBYE, montrent que le dépôt d'un inoculum de $4 \log_{10}$ (UFC/cm²) pour les différentes flores de barrières F1, F2 et F3 a permis respectivement d'obtenir des niveaux de 7,07 ; 7,56 et 5,22 \log_{10} (UFC/cm²) sur les coupons PE après 24h, démontrant la capacité des flores à croître dans ces conditions, malgré des différences quantitatives en fonction des flores.

En présence de fientes dans de l'eau du réseau, les niveaux de flores après 24h étaient respectivement de 7,76 ; 4,06 et 8,00 \log_{10} (UFC/cm²) pour les flores F1, F2 et F3. Ce résultat révèle une hétérogénéité de la réponse des flores dans ces conditions avec les flores F1 et F3 capables de croître fortement en présence de matière organique (fientes). Inversement, la flore F2 demeurait à une quantité d'UFC/cm² comparable à celle de l'inoculum (environ $4 \log_{10}$ UFC/cm²), et ne semblait pas capable de croître en présence de fientes contrairement à ce qui est observé en présence de TSBYE.

La Figure 2 présente les quantités de *S. Typhimurium* dénombrées à 24h ou 48h après inoculation du pathogène sur des coupons colonisés flores de barrières F1, F2 et F3 développées en présence de fientes (A) ou TSBYE (B). Les résultats montrent une disparité de l'efficacité des flores à inhiber l'implantation du pathogène qui est en partie dépendante des niveaux en UFC/cm² de flores de barrière. Les flores F1 et F3 (7 à $8 \log_{10}$ (UFC/cm²)) sont capables d'inhiber significativement *S. Typhimurium*. La flore F1 démontre une efficacité totale dès 24h alors que des niveaux d'inhibition comparables sont atteints en 48h par la flore F3. Les coupons avec la flore F2, en revanche, présentent des quantités de *S. Typhimurium* comparables à celles dénombrées sur les coupons sans flore. Cela est à mettre en relation avec les faibles niveaux de flores F2 obtenus dans ces conditions en présence de fientes ($\sim 4 \log_{10}$ (UFC/cm²)), similaires à ceux obtenus sans apport de matières organiques dans l'eau du réseau.

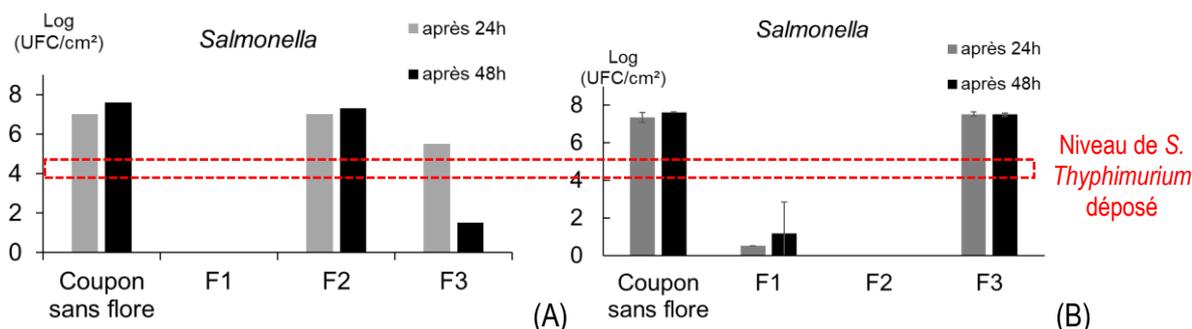


Figure 2 : Quantités de *S. Typhimurium* (en \log_{10} (UFC/cm²)) dénombrées après 24h ou 48h après inoculation du pathogène sur des coupons colonisés flores de barrières F1, F2 et F3 développées en présence de fientes (A) ou TSBYE (B) en comparaison d'un coupon PE sans flore (témoin).

2.4 Impact de l'application d'une action mécanique sur la mesure de l'efficacité des détergents enzymatiques sur acier inoxydable

La suspension bactérienne obtenue après décrochage des biofilms d'*E. coli* est concentrée à hauteur de $7,5 \pm 0,1 \log_{10}$ UFC/ml. La densité des biofilms sur les coupons en acier inoxydable après 5 jours d'incubation à 25°C atteint donc $8,5 \pm 0,1 \log_{10}$ UFC/support en moyenne. Ces biofilms d'*E. coli* préparés en présence de fientes de poulet ont ensuite été soumis aux différents détergents enzymatiques.

Dans un premier temps, les détergents enzymatiques ont été appliqués par simple immersion des biofilms dans le produit (Figure 4 (A)). En l'absence d'action mécanique, l'impact mesurable des détergents enzymatiques sur les biofilms, en comparaison à un traitement à l'eau, est faible. A 20°C, seul le détergent A présente une activité significative avec une densité de biofilm réduite d' $1 \log_{10}$ en moyenne par rapport au témoin « eau » ($p < 0,05$). A 30°C, seul le traitement avec le détergent C permet de réduire significativement la densité du biofilm par rapport au témoin ($-2,75 \log_{10}$; $p < 0,05$).

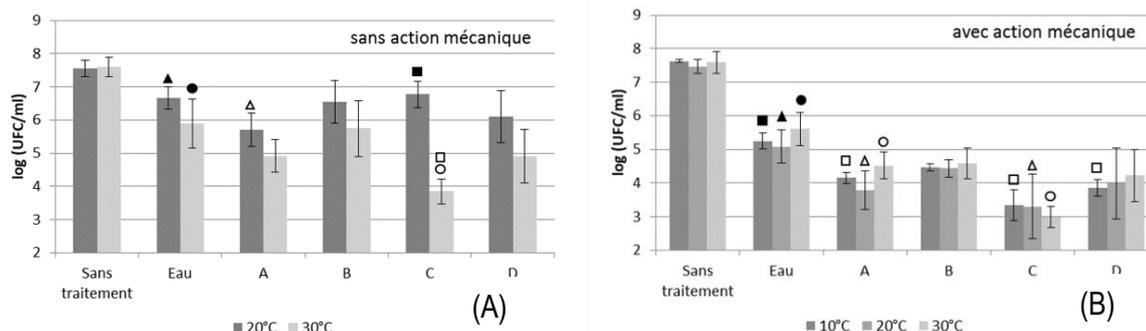


Figure 4 : Impact de la détergence enzymatique sur la quantité de bactéries résiduelles (\log_{10} UFC/ml) sur les coupons en acier inoxydable après traitement à différentes températures avec application ou non d'une action mécanique. La présence de symboles identiques montre qu'il existe une différence significative entre le traitement (symbole vide) et la condition de référence (symbole plein) (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

L'absence d'action mécanique pendant ou après l'application des détergents peut avoir un effet sur la mesure de l'efficacité des enzymes. Ceci s'est vérifié lorsque les traitements ont été réalisés sous agitation lente. Dans ces conditions, la simple application d'eau affecte fortement la structure des biofilms avec une réduction de la concentration en *E. coli* résiduelle supérieure à $2 \log_{10}$ (Figure 4 (B)). Néanmoins, l'activité des détergents enzymatiques est plus facilement mise en évidence dans ces conditions puisque les détergents A et C se montrent tous deux efficaces comparativement au témoin ($p < 0,05$) quelles que soient les températures d'application (-1 à $-1,3 \log_{10}$ de réduction pour A ; $-1,7$ à $-2,6 \log_{10}$ pour C). Le détergent D est également efficace à 10°C avec un biofilm résiduel réduit de $1,5 \log_{10}$ en moyenne par rapport au traitement avec de l'eau ($p < 0,05$).

Les fournisseurs recommandent en général l'application des détergents enzymatiques avec un canon ou une centrale à mousse. A la fin du temps de contact, les surfaces peuvent être rincées avec un nettoyeur haute pression. Les résultats décrits ici semblent montrer que cette étape de rinçage à haute pression peut être déterminante pour une efficacité optimale des détergents enzymatiques. En effet, une simple application en conditions statiques réduit significativement l'impact de la détergence sur le biofilm.

2.5 Apport de la détergence enzymatique lors d'un traitement combinant détergence et désinfection

Les détergents enzymatiques déstabilisent la matrice extracellulaire des biofilms ce qui pourraient permettre aux désinfectants d'atteindre les bactéries de manière plus efficace. Cet effet synergique entre détergence enzymatique et traitement avec le biocide a été apprécié en appliquant sur les biofilms d'*E. coli* une détergence avec le produit commercial C (le plus efficace en moyenne dans les essais précédents) suivie d'une désinfection modérée (Tableau 2).

Tableau 2 : Concentration en *E. coli* résiduelle (\log_{10} UFC/ml) mesurée après application de traitements à 20°C sur les coupons en acier inoxydable, combinant détergence (eau ou enzymes, avec ou sans action mécanique) et désinfection.

modalité	détergent enzymatique	action mécanique	Biocide	Concentration en <i>E. coli</i> (\log_{10} UFC/mL)
1	Non	-	Non	$7,9 \pm 0,1$
2	Eau	Oui	Non	$6,3 \pm 0,2$
3	Eau	Oui	Oui	$5,1 \pm 0,3$
4	Oui (détergent C)	Oui	Non	$4,1 \pm 0,3$
5	Oui (détergent C)	Oui	Oui	$2,9 \pm 0,1$



6	Oui (détergent C)	Non	Non	4,4 ± 0,2
7	Oui (détergent C)	Non	Oui	3,8 ± 0,2

Ces derniers résultats confirment l'intérêt de l'action mécanique sur l'efficacité de la détergence enzymatique ($-0,3 \log_{10}$ de biofilm résiduel sous agitation) et l'intérêt de l'utilisation d'enzymes comparativement à un simple nettoyage à l'eau ($-2,2 \log_{10}$ de biofilm résiduel). Cet effet du traitement enzymatique est également visible lorsqu'il est suivi de l'application d'un biocide à base d'ammoniums quaternaires et de glutaraldéhyde. En effet, la concentration en *E. coli* résiduelle après application des enzymes puis du désinfectant est de $3,9 \log_{10}$ UFC/support contre $6,1 \log_{10}$ UFC/support lorsque de l'eau est utilisée en détergence. Cependant, il est intéressant de noter que l'application du biocide entraîne une réduction de $1,2 \log_{10}$ de la concentration en *E. coli*, qu'un détergent enzymatique ait été utilisé ou non en amont de la désinfection. Ces résultats n'ont donc pas permis de mettre en évidence de « sensibilisation » du biofilm au traitement désinfectant après application du détergent C. Dans les conditions d'essai décrites ici, la meilleure efficacité d'un traitement « détergent enzymatique + biocide », comparativement au protocole « nettoyage à l'eau + biocide », réside dans l'élimination d'une plus grande partie du biofilm lors de la phase de détergence mais ne résulte pas d'une synergie entre l'action des enzymes et la désinfection. Un simple effet cumulatif entre les deux étapes du protocole de nettoyage et désinfection a été observé.

3 Conclusion

L'état des lieux des familles de produits réalisé dans cette étude représente une photographie à un instant donné. Les produits pourraient en effet évoluer à l'avenir avec l'évaluation des substances actives. Un certain nombre de molécules, présentant le plus de risques pour la santé humaine, risquent de ne pas être approuvées et donc d'être supprimées dans les formulations commerciales.

Cette étude met néanmoins en lumière une part non négligeable de situations pour lesquelles le risque résiduel par inhalation ou par contact cutané ou oculaire reste élevé, en particulier pour les élevages avicoles et piscicoles. La mise en place de stratégies de prévention est donc particulièrement à prioriser pour ce maillon, d'autant plus que la sensibilisation, l'information et la formation y sont moins soutenues (collectif de travail plus réduit par entreprise, mobilisation des éleveurs plus difficile sur ces sujets...).

Dans des conditions favorables à leur développement, et en les appliquant en quantité suffisante ($\sim 6-7 \log_{10}$ UFC par cm^2), les flores de barrière limitent très significativement la formation de biofilms de *S. Typhimurium*. Un faible impact de la désinfection sur le développement des flores de barrière, pour la majorité des produits biocides de différentes familles chimiques a par ailleurs été démontré dans le cadre de ces expérimentations de laboratoire (résultats non présentés). Les détergents enzymatiques ont également montré au travers de ces travaux, leur intérêt pour l'amélioration de l'efficacité des procédures de nettoyage et désinfection. L'application d'une force mécanique permet d'améliorer l'efficacité de ces produits quelle que soit la température à laquelle, ils sont appliqués. Même si ces essais ont été réalisés en prenant en compte les spécificités de la filière (croissance du biofilm en présence de fientes de poulet, choix de températures d'application réalistes...), l'intérêt de ces deux méthodes complémentaires testées dans le cadre du projet aDAPt ne pourra être clairement confirmé qu'après la réalisation d'études croisées sur les modes d'application et sur le terrain.

Afin de favoriser la sensibilisation des éleveurs aux bonnes pratiques de manipulations du matériel et des produits, pour protéger leur santé, celles des consommateurs et de l'environnement, mais aussi garantir l'efficacité de la désinfection, des outils d'information et de recommandations ont été développés dans le cadre du projet aDAPt (<https://www.itavi.asso.fr/projets/projet-adapt>).

Ethique



Les auteurs déclarent que les expérimentations ont été réalisées en conformité avec les réglementations nationales applicables.

Déclaration sur la disponibilité des données et des modèles

Les données qui étayent les résultats évoqués dans cet article sont accessibles sur demande auprès de l'auteur de correspondance de l'article.

Déclaration relative à l'Intelligence artificielle générative et aux technologies assistées par l'Intelligence artificielle dans le processus de rédaction.

Les auteurs n'ont pas utilisé de technologies assistées par intelligence artificielle dans le processus de rédaction.

Contributions des auteurs

Rousset Nathalie : collecte de données, réalisation des évaluations de risque, analyse des résultats, rédaction.

Griveau Gildas, Riolland Claire : expertise évaluation de risque via le logiciel SEIRICH, collecte de données

Balaine Loïc, Battaglia Antoine, Berlizo Benoît, Dumas Victor, Galliot Pascal, Kot Lucile, Pertusa Marion, Ruch Marion, Thomas Rodolphe, Van Cuick Claire : collecte de données

Carpentier Patrice, Deffreix Laurent, Huneau Adeline, Le Bouquin-Leneveu Sophie, Travel Angélique : expertise utilisation des désinfectants

Bridier Arnaud, Ait Ahmed Azziza, Le Grandois Patricia, Soumet Christophe : réalisation des essais sur les flores de barrière, analyse des résultats, rédaction

Hanin Aurélie, Levert Delphine : réalisation des essais sur les détergents enzymatiques, analyse des résultats, rédaction.

Règlement (UE) N°528/2012 du parlement européen et du conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides

Déclaration d'intérêt

Les auteurs déclarent ne pas travailler, ne conseiller, ne pas posséder de parts, ne pas recevoir pas de fonds d'une organisation qui pourrait tirer profit de cet article, et ne déclarent aucune autre affiliation que celles citées en début d'article.

Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble des professionnels (éleveurs, vétérinaires, responsables qualité, fabricants de produits) qui ont accepté de participer au projet.

Déclaration de soutien financier

Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet CASDAR aDAPt, piloté par l'ITAVI en collaboration avec l'Anses, la MSA d'Armorique, ACTALIA, la SNGTV, Le Lycée agricole de Bréhoulou, le CIPA et l'Idèle. Le projet aDAPt fait partie du programme de travail de l'UMT SANIVOL, impliquant l'Anses et l'ITAVI. Les auteurs remercient l'ensemble des entreprises ayant participé à cette étude.

Références bibliographiques :

Abadia G., Mirabito L., 2003. Influence des modifications des système d'élevage sur la santé des éleveurs. 5^{ème} Journées de la Recherche Avicole, Tours.

Bertrand N., Clerc F., Malard S., Marc F., Miraval S., Toulemonde M., Vincent R., 2020. In : Démarche d'évaluation des risques utilisée dans Seirich – Version 9, INRS, pp37.



Bridier A., Briandet R., Thomas V., Dubois-Brissonet F., 2011. Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review. *Biofouling* 27 (9),1017-1032.

Bridier A., Sachez-Vizueté P., Guilbaud M., piard J.-C., Naïtali M., Briandet R., 2015. Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. *Food Microbiology* 45, 167-78.

Delhalle L., Taminiou B., Fastrez S., Fall A., Balesteros M., Burtéau S., Daube G., 2020. Evaluation of Enzymatic Cleaning on Food Processing Installations and Food Products Bacterial Microflora. *Frontiers in Microbiology* 11, 1827.

European Commission – Joint Research Centre - Institute for Health and Consumer Protection - European Chemicals Bureau (ECB), 2003. In : *Technical Guidance Document on Risk Assessment. Part II.* Commission européenne, pp337

Huneau-Salaün A., Scoizec A., Thomas R., et Le Bouquin-Leneveu S., 2017. Efficacité de la décontamination des caisses et des véhicules de transport de canard: observations de terrain durant l'épizootie d'influenza aviaire H5N8 en France en 2017. *Bulletin Epidémiologique, Santé Animale* 80 (2), 6-9.

Massin N., Hecht G. Ambroise D., Héry M, Toamain JP, Hubert G, Dorotte M., Bianchi B., 2007. Respiratory symptoms and bronchial responsiveness among cleaning and disinfecting workers in the food industry. *Occupational Environmental. Medecine* 64, 75-91.

Sanderson W T, Weber A., 1995. A Case reports: Epidemic Eye and Upper Respiratory Irritation in Poultry Processing Plant. *Applied*

Occupational and Environmental Hygiene 10, 43-49.

Scoizec A, Souillard R., Daniel P., Thomas R., et Le Bouquin-Leneveu S., 2017. Evolution de la détection de virus influenza aviaire dans des élevages de volailles infectées par un virus influenza aviaire hautement pathogène de sous type H5N8. *Bulletin Epidémiologique, Santé Animale* 80 (3), 10-16.

Tsiaprazi-Stamou A., Ylla Monfort I., Romani A. M., Bakalis S., Gkatzionis K., 2019. The synergistic effect of enzymatic detergents on biofilm cleaning from different surfaces. *Biofouling* 35 (8), 883-899.



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 4.0)

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue *Innovations Agronomiques* et son DOI, la date de publication