

Prévalence de *Salmonella* sp. et de *Listeria monocytogenes* dans les effluents de 46 élevages bretons

Anne-Marie POURCHER, Magalie KERVARREC, Christine ZIEBAL, Thierry BIOTEAU, Patrick DABERT
CEMAGREF, UR GERE, F-35044 Rennes, France- Université européenne de Bretagne, France

Prevalence of *Salmonella* sp. and *Listeria monocytogenes* in effluents of 46 pig farms in Brittany

Salmonella and *L. monocytogenes* which are foodborne pathogens of major concern for public health may persist in the environment. It appears thus important to estimate their prevalence in pig manure intended for spreading. Analyses were performed on raw manure, treated manure after biological treatment and lagoons. *Salmonella* has been detected in 51% of raw manures stored in a tank, in 14.8% of the treated manures and in 7.4 % of the lagoons. Their concentration did not exceed 12 bacteria / g. The predominant serotype found in manure was *Salmonella* Derby which represented 50% of the serotypes identified. *L. monocytogenes* has been detected in 25% of the raw manures, in 11.5% of the treated manures but also in 28% of the lagoons. The serotype 4b which is implicated in human epidemic infections represented 50% of the serotypes identified. There was no correlation between the prevalence of the two pathogenic bacteria and the type of manure treatment. However, the biological treatment leads to a decrease of *Salmonella* contamination levels.

INTRODUCTION

Les salmonelles et *L. monocytogenes* sont des bactéries pathogènes pouvant être à l'origine de toxi-infections alimentaires chez l'homme. Leur présence a été mise en évidence dans les différents éléments de la chaîne de production porcine et notamment dans les fèces des animaux (Belœil et al., 2003, Corrége et al., 2002). Ces deux bactéries étant capables de survivre en dehors de leur hôte, il est important d'évaluer leur présence dans les lisiers destinés à l'épandage. L'objectif de cette étude était d'estimer la prévalence des salmonelles et de *L. monocytogenes* dans les lisiers d'élevages porcins bretons et l'impact sur ces deux micro-organismes du traitement biologique appliqué aux lisiers.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés dans les effluents de 46 élevages bretons. Le traitement biologique du lisier est réparti en 4 filières dont 3 (types 2 à 4) visent à réduire l'azote :

- type 1 : le lisier est stocké en fosse avant d'être épandu.
- type 2 : cette filière comprend une fosse tampon de stockage du lisier et un bassin d'aération permettant d'éliminer l'azote, suivi d'une fosse de stockage ou de décantation qui permet de séparer les boues biologiques de la phase liquide issue du traitement biologique. La phase liquide est stockée dans une lagune.
- type 3 : ces filières, équipées comme celles de type 2, comportent en outre une étape de séparation du lisier brut en amont du bassin d'aération, qui permet d'éliminer une partie du phosphore retenu sur les matières en suspension.
- type 4 : ces filières présentent des caractéristiques identiques à celles de type 3 mais le système de décantation est remplacé

par un système de filtration situé après le réacteur biologique qui permet d'extraire les boues biologiques et de les réintroduire en tête du séparateur de phase mécanique placé en amont du réacteur de traitement. Les durées de stockage des effluents sont de 6 à 9 mois pour le lisier brut de la filière de type 1 et les boues des filières de types 2 et 3, d'environ un mois pour le lisier brut stocké en fosse tampon et de 9 à 12 mois pour les eaux de lagunes. Les prélèvements ont été réalisés sur les lisiers bruts et les boues biologiques stockés en fosse, ainsi que sur les eaux de lagune. Afin de s'assurer de la représentativité des échantillons, un brassage a été réalisé à l'aide d'hélices dans les fosses avant chaque prélèvement. Le lisier et les sous-produits issus du traitement ont été transférés dans des bidons de 20 litres stockés à 4°C et analysés en triplicat dans les 24 heures qui ont suivi le prélèvement.

1.2. Analyses bactériologiques

Les salmonelles ont été dénombrées selon le protocole de la norme AFNOR XP X33-018 (Anonyme, 2004). La présence de *L. monocytogenes* a été mise en évidence par un enrichissement en milieu One Broth (OXOID) suivi d'un isolement sur gélose Brilliance listeria (OXOID). Les colonies de *L. monocytogenes* (bleues entourées d'un halo) ont été repiquées sur le milieu Rapid'L. Mono (Bio-Rad) pour confirmation. Les souches de *L. monocytogenes* et de salmonelles ont été sérotypées par la recherche des antigènes somatiques et flagellaires.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les salmonelles ont été trouvées dans 66,7 % des lisiers bruts stockés en fosse (filière de type 1) et dans 45 % des lisiers stockés en fosse tampon (tableau 1). Dans la bibliographie, la fréquence de détection des salmonelles dans les lisiers est très variable d'une étude à l'autre : il a ainsi été rapporté des prévalences allant de 1,6% pour 380 effluents d'élevages porcins en Allemagne (Holzel et Bauer, 2008) à 71,4% pour une étude réalisée sur 14 élevages irlandais (Watabe et al., 2003).

Dans notre étude, la prévalence élevée que nous avons observée peut être expliquée par le mode de gestion des effluents. Les fosses sont en effet alimentées régulièrement par du lisier issu du bâtiment, contribuant ainsi à un maintien des salmonelles dans les fosses de stockage. Toutefois les concentrations maximales en salmonelles ne dépassent pas 12 bactéries / g de lisier, ce qui est en accord avec les valeurs observées par Hill et Sobsey (2003) et Fablet *et al.* (2007). Le traitement biologique du lisier entraîne une réduction de la concentration et de la prévalence de ces bactéries dans les boues et les lagunes, quelle que soit la filière de traitement.

Tableau 1 : Concentrations moyennes (bactéries/ 100 g ou 100 mL) de *Salmonella* et prévalence de *Salmonella* et de *L. monocytogenes* dans les effluents d'élevages porcins

Type d'effluent (type de filière)	nb élevages	<i>Salmonella</i> Prévalence (concentration)	<i>L. monocytogenes</i> Prévalence
lisiers bruts (1)	12	66,7 % (215)	25,0 %
lisiers bruts (2 à 4)	31	45% (46)	16,1 %
boues stockées (2)	18	16,7% (6)	11,1%
boues stockées (3)	9	9,1 % (4)	11,1 %
Lagunes (2 à 4)	28	7,4 % (6)	28,6 %

La fréquence de détection de *L. monocytogenes* est plus faible que celle des salmonelles mais, contrairement à ces dernières, leur persistance n'est pas influencée par le traitement. Elles sont d'ailleurs plus fréquemment trouvées dans les eaux de lagunes que dans les boues.



Figure 1 : Prévalence de *L. monocytogenes* et de *Salmonella* dans les effluents d'élevages porcins. Les chiffres indiquent les types de filières dans lesquelles les 2 bactéries ont été retrouvées simultanément.

Les deux bactéries pathogènes ont été trouvées simultanément dans les effluents de 7 élevages mais il n'a pas été mis en évidence de corrélation entre leur présence et le type de filière de traitement (figure 1). Le sérotypage des souches de salmonelles et de *L. monocytogenes* a montré la prédominance d'un sérotype (tableau 2).

Tableau 2 - Prévalence des sérotypes de salmonelles et de *L. monocytogenes* dans les effluents d'élevages porcins

<i>Salmonella</i>		<i>L. monocytogenes</i>	
sérotypes	%	sérotypes	%
S. Derby :	50,0	4b	50,0
S. Infantis	10,7	1/2a	20,8
S. Typhimurium	7,1	1/2b	16,7
S. Kedougou	7,1	4e	8,3
S. Anatum	7,1	3b	4,2
autres sérotypes	18		

Ainsi, pour les salmonelles, le sérotype S. Derby, fréquemment observé dans les élevages porcins (Corrégé *et al.*, 2002) représente à lui seul la moitié des sérotypes identifiés dans notre étude. Il est important de souligner que pour *L. monocytogenes*, les sérotypes 4b, 1/2a et 1/2b, majoritaires dans les lisiers et dans les eaux de lagunes, sont impliqués dans les cas de listériose humaine (Mammaia *et al.*, 2009).

CONCLUSION

Les filières de traitement biologique, conçues pour éliminer l'azote, conduisent à un abattement très variable des concentrations en salmonelles compris entre 0 et 2,6 unités logarithmiques. Par ailleurs, les prévalences des salmonelles et de *L. monocytogenes* ne sont corrélées à aucun des paramètres pris en compte dans notre étude : durée de stockage du lisier et des boues, localisation géographique de l'élevage, taille de l'élevage, alimentation (soupe ou farine), type de filière de traitement. En s'appuyant sur l'exemple des salmonelles et de *L. monocytogenes*, il ressort de ces résultats que l'impact du traitement biologique du lisier sur la survie des micro-organismes n'est pas associé à un type de filière particulier mais dépend du micro-organisme.

REMERCIEMENTS

Cette étude a bénéficié du soutien financier de l'ADEME et de l'AFSSET.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anonyme, 2004. XP X33-018. Caractérisation des boues - Dénombrement des *Salmonella* - Méthode de dénombrement en milieu liquide (méthode du Nombre le Plus Probable - NPP). 20 pages. AFNOR, France
- Beloeil PA., Chauvin C., Toquin MT., Fablet C., Le Nôtre Y., Salvat G., Madec F., Fravallo P., 2003. *Listeria monocytogenes* contamination of finishing pigs: an exploratory epidemiological survey in France. Veterinary Research. 34 (6) : 737-48.
- Corrégé I., Proux K., Fravallo P., Cornou C.1, Flého J.Y., 2002. Les salmonelles en élevage porcin : caractérisation et rôle épidémiologique du statut des cochettes. Journées Rech. Porcine. 34 : 309-315.
- Fablet C., Robinault C., Jolly J.P, Collet M., Chemaly M., Labbé A, Madec F, Fravallo P., 2006. *Salmonella enterica* level in French pig farms effluents: Experimental and field data. Livestock Science. 102 (3) : 216-225
- Hill, V. R., and Sobsey M. D., 2003, Performance of swine waste lagoons for removing *Salmonella* and enteric microbial indicators. Transactions of the Asae. 46 : 781-788.
- Hölzel, C., Bauer. J., 2008. *Salmonella* spp. in Bavarian Liquid Pig Manure: Occurrence and Relevance for the Distribution of Antibiotic Resistance. Zoonoses and Public Health. 55 (3) : 133 – 138
- Mammaia C., Aleo A., Romani C., Pellissier N., Nicoletti P., Pecile P., Nastasi A., Pontello M. M. 2009. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from Human Listeriosis cases in Italy. Journal of Clinical Microbiology. 47 (9) : 2925-2930
- Watabe, M., Rao, J. R., Stewart, T. A., Xu J., Millar, B.C., Xiao L., Lowery, C.J., Dooley, J.S. G., Moore, J.E., 2003. Prevalence of bacterial faecal pathogens in separated and unseparated stored pig slurry. Letters in Applied Microbiology. 36 : 208-212