

# Intérêt d'une deuxième désinfection par Ultradiffusion pour optimiser la désinfection des salles d'élevages de porcs

Isabelle CORRÉGÉ (1), Nathalie LEBORNE (2), Albine TEISSIER (2), Romain RICHARD (1), Anne HÉMONIC (1)

(1) IFIP – Institut du porc, Domaine de la Motte au Vicomte, BP 35104, 35651, Le Rheu Cedex

(2) LCB Food Safety, 71 RN6, 71260 La Salle

isabelle.correge@ifip.asso.fr

## Improving pig farm building disinfection by applying a second disinfection with ultradiffusion

In two farrowing rooms, a recommended cleaning and disinfecting protocol was implemented. After complete drying of rooms (controlled by monitoring the relative humidity), a second disinfection by ultradiffusion was carried out. The effectiveness of surface disinfection is evaluated by counting in ten sample sites the total number of bacteria in Petri dishes before and after ultradiffusion. At the same time, the assessment of the efficiency of the process on specific pathogens (salmonella, staphylococcus and streptococcus) is performed by the use of germ carrier steel discs under a test protocol compliant with the French Standard (AFNOR NFT72281) recommended for measuring the effectiveness of disinfecting by the air way disinfection methods.

Results for total bacteria counts in Petri dishes suggest an improvement in the final disinfection (60% of the samples show fewer bacterial colonies after the second disinfection) but some uncertainty remains on the level of this gain, due to the very low initial level of contamination (before any disinfection). Thus, the method of microbiological carrier test confirmed, in field conditions, the efficacy of the here-applied global disinfection process to decrease the number of the 3 types of pathogenic microorganisms considered, with a reduction of contamination exceeding 2 log.

## INTRODUCTION

La mise en œuvre d'une désinfection terminale pour améliorer la qualité globale du protocole de nettoyage-désinfection et limiter le risque de persistance de germes pathogènes comme les salmonelles est fréquente dans les élevages de volailles. En élevage de porcs, Corrége *et al.* (2003) ont montré une recontamination de la salle durant la phase de vide sanitaire et une réduction de la contamination bactérienne après l'application d'une deuxième désinfection (liquide ou en nébulisation). L'hygrométrie étant un des facteurs conditionnant la persistance des germes pathogènes, l'objectif est d'évaluer l'application d'une désinfection par voie sèche, l'ultradiffusion, sur le résultat final de la désinfection et sur la destruction de germes pathogènes spécifiques.

## 1. MATERIELS ET METHODES

Dans deux salles de maternité, un protocole de nettoyage-désinfection complet est mis en œuvre : trempage automatisé de 30 minutes, application de détergent, lavage de la salle et des préfesses, rinçage et désinfection des surfaces par application de mousse. Le séchage complet de la salle est réalisé par ventilation de la salle à 100% (du débit maximum) pendant 4 jours suivi d'un chauffage par un aérotherme pendant 1 jour (consigne 30°C) et ventilation à 30%. La qualité du séchage est contrôlée par enregistrement en continu de l'humidité relative et de la température.

L'ultradiffusion, procédé permettant la dispersion de substances actives par voie aérienne est réalisée 5 jours après la fin de la désinfection. Un désinfectant bactéricide et fongicide à base d'acide hydroxyacétique (Fumagri® HA) est utilisé à raison de 1 g/m<sup>3</sup>. Les boîtes de désinfectant sont positionnées au sol, au centre de la salle, et le traitement est mis en œuvre selon les recommandations du fournisseur. La salle reste fermée et étanche pendant 15 heures (temps

d'action préconisé du produit). L'étanchéité de la salle est assurée par arrêt de la ventilation et fermeture des entrées et sorties d'air du système de ventilation. Dans l'une des deux salles, une deuxième ultradiffusion est réalisée 24 heures après la première (traitement cumulatif).

L'efficacité de la désinfection par voie aérienne est évaluée par la méthode des porte-germes, selon la Norme NFT 72281 (AFNOR, 2009). Les porte-germes, disques d'acier en inox, sont ensemencés avec des suspensions bactériennes spécifiques de concentration connue. Les souches testées sont *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus hirae*. Les disques sont disposés en position verticale et/ou en position horizontale, dans deux paniers grillagés placés à 1,50 m du sol (respectivement au milieu et au fond de la salle) pendant le temps d'action du produit (15 heures). Après dilution dans un milieu de culture et incubation à 37°C pendant 48 heures, un dénombrement est réalisé. Afin d'évaluer la survie des micro-organismes, les disques exposés à l'ultradiffusion sont comparés à un support témoin, non exposé au produit et ensemencé avec la même suspension de départ. Les résultats obtenus, exprimés en logarithme décimal, permettent de définir un taux de réduction qui démontrera ou non l'efficacité de la désinfection, calculé à partir de la formule :

$$\log_{10} [\text{Témoin (nb de cellules/ml)} / \text{Essai (nb de cellules/ml)}]$$

Le taux de réduction est interprété à partir de la norme NFT 72 281 : s'il est  $\leq 1,5$  log, l'efficacité est non démontrée; s'il est compris entre 1,5 log et 5 log, l'efficacité est considérée comme significative ; enfin l'efficacité est totale s'il est  $\geq 5$  log.

Des contrôles bactériologiques de l'efficacité de la désinfection sont réalisés 1 heure après la première désinfection, juste avant l'ultradiffusion, puis après la première ultradiffusion et enfin, après la deuxième ultradiffusion pour le traitement cumulatif. Ces contrôles sont réalisés par des boîtes contact flore totale avec inhibiteurs de désinfectant (milieu Hygicount), sur 10 sites par salle, définis selon des modalités

précédemment décrites (Corrégé *et al.*, 2003). Pour ces quatre séries de prélèvements et pour chaque site contrôlé, les boîtes contact sont appliquées sur des zones juxtaposées.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les conditions de température et d'hygrométrie dans les deux salles ont été optimales pour l'ultradiffusion (environ 21°C et 50 % d'hygrométrie; Tableau 1).

**Tableau 1 –** Température et hygrométrie

		Moyenne	Mini	Maxi
1 ultradiffusion	Hygrométrie, %	46,0	32,7	53,8
	Température, °C	21,9	15,9	23,5
2 ultradiffusions	Hygrométrie, %	51,1	40,9	62,6
	Température, °C	20,8	14,4	23,0

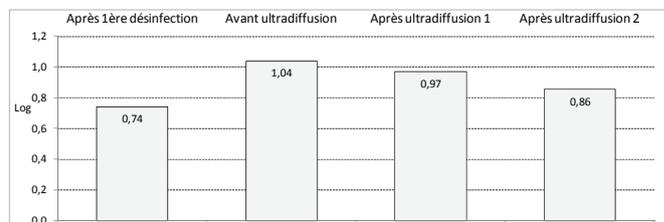
Pour les trois souches testées, les taux de réduction après une désinfection par ultradiffusion sont strictement supérieurs à 2 log, avec des valeurs allant jusqu'à 2,6 log, soit une efficacité significative démontrée de 99 % à 99,8 % (Tableau 2). Pour la répétition avec deux ultradiffusions successives, les taux de réduction varient de 1,9 à 2,3 log après la première désinfection et, après la seconde, de 2,1 à >3,1 log, soit une efficacité significative démontrée de 99 % à >99,9 %.

**Tableau 2 –** Ultradiffusion : résultat des porte-germes

	Souches	Panier	Modalités	Taux réduction	
				Témoin/Essai log	%
1 ultradiffusions	<i>Salmonella enteritidis</i>	1	Disque horizontal	2,45	99,6%
			Disque vertical	2,47	99,7%
	2	Disque horizontal	>2,00	>99,0%	
		Disque vertical	>2,00	>99,0%	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	Disque horizontal	2,64	99,8%
			Disque vertical	2,14	99,3%
2	Disque horizontal	2,21	99,4%		
	Disque vertical	2,00	99,0%		
<i>Enterococcus hirae</i>	1	Disque horizontal	2,36	99,6%	
		Disque vertical	2,09	99,2%	
	2	Disque horizontal	2,1	99,2%	
		Disque vertical	2,14	99,3%	
2 ultradiffusions	<i>Salmonella enteritidis</i>	1	1 <sup>ère</sup> Ultradiffusion	1,90	98,7%
			2 <sup>ème</sup> Ultradiffusion	>3,11	>99,9%
	2	1 <sup>ère</sup> Ultradiffusion	2,24	99,4%	
		2 <sup>ème</sup> Ultradiffusion	>3,11	>99,9%	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1 <sup>ère</sup> Ultradiffusion	2,28	99,5%
			2 <sup>ème</sup> Ultradiffusion	2,39	99,6%
	2	1 <sup>ère</sup> Ultradiffusion	2,15	99,3%	
		2 <sup>ème</sup> Ultradiffusion	2,37	99,6%	
	<i>Enterococcus hirae</i>	1	1 <sup>ère</sup> Ultradiffusion	1,98	99,0%
			2 <sup>ème</sup> Ultradiffusion	2,09	99,2%
		2	1 <sup>ère</sup> Ultradiffusion	2,11	99,6%
			2 <sup>ème</sup> Ultradiffusion	2,14	99,3%

La contamination des surfaces (flore totale), évaluée au moyen des boîtes contact, varie peu entre les traitements (Figure 1). Pendant la phase de séchage de 5 jours, le niveau de contamination de la salle augmente mais de manière non

significative (Glm, SAS). Après les traitements par ultradiffusion, le niveau de contamination diminue mais également sans différence significative. Les pourcentages de sites contrôlés dont le nombre de colonies diminue, 61 % après première ultradiffusion et 70 % après deuxième ultradiffusion, confirment cette tendance (Tableau 3). 63 % des sites ont leur nombre de colonies qui augmente pendant la phase de séchage. L'augmentation de la contamination durant le vide sanitaire-séchage, du fait de l'entrée de poussières et donc de germes via la ventilation, confirme des données antérieures (Corrégé *et al.*, 2003).



**Figure 1 –** Boîtes contact: moyenne du nombre de colonies

L'absence de diminution significative du nombre de colonies après l'ultradiffusion peut s'expliquer par un niveau de contamination très bas avant sa mise en œuvre (10 colonies en moyenne par boîte) : dans des salles bactériologiquement très propres, la marge de progrès est limitée. De plus, la boîte contact est une méthode semi-quantitative qui ne permet pas de déceler des variations fines du niveau de contamination. Enfin, le principe même du prélèvement par boîte contact nécessite de faire les prélèvements pour les différents traitements sur des surfaces juxtaposées qui peuvent présenter des variations de contamination non liées au traitement. Cependant, l'hypothèse d'une efficacité moindre de l'ultradiffusion sur les surfaces présentes en élevage (matériaux différents des porte-germes, usure différente, présence de biofilm) ne peut pas être écartée.

**Tableau 3 –** Boîtes contact : évolution du nombre de colonies

% de sites pour lesquels le nombre de colonies	↗	=	↘
Après désinfection -> Avant ultradiffusion	63	5	32
Avant ultradiffusion -> Après ultradiffusion 1	28	11	61
Après ultradiffusion1 -> Après ultradiffusion 2	40	20	40
Avant ultradiffusion -> Après ultradiffusion 2	20	10	70

## CONCLUSION

La méthode des porte-germes confirme, en conditions de terrain, l'efficacité de l'ultradiffusion sur les trois types de germes testés, avec des taux de réduction supérieurs à 2 log. Elle pourrait s'avérer être une solution préventive dans le cadre de mesures de prévention contre les salmonelles ou d'autres agents pathogènes. Les résultats des boîtes contact suggèrent une amélioration de la désinfection finale (60 % des sites révèlent moins de colonies après la deuxième désinfection) mais difficilement quantifiable en raison du très faible niveau de contamination observé avant cette désinfection.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFNOR, 2009. NF T72-281. Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne - Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide et sporicide.
- Corrégé I., Cornou C., Lenoir H., 2003. Efficacité relative et coût de différents procédés de nettoyage-désinfection en élevage porcin, Journées Rech. Porcine, 37, 427-434.
- Corrégé I., De Azevedo C., Le Roux A., 2003. Mise au point d'un protocole de contrôle du nettoyage et de la désinfection en élevage porcin, Journées Rech. Porcine, 37, 419-426.