



PARUTION ANTICIPEE

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

Adeline Huneau-Salaün, Axelle Scoizec, Rodolphe Thomas, Sophie Le Bouquin

Auteur correspondant : adeline.huneau@anses.fr

Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Unité Epidémiologie et bien-être en aviculture et cuniculture, Ploufragan, France

Résumé

La validation de la décontamination des caisses et des moyens de transport des volailles soulève de nombreuses interrogations chez les professionnels depuis la première crise d'influenza aviaire en 2015. Cette étude porte sur le contrôle de la décontamination de camions de transport dans le cadre des abattages préventifs de lots de volailles via huit séries de prélèvements sur camion et caisses de transport dans quatre abattoirs, au cours de l'épizootie d'influenza aviaire hautement pathogène H5N8 en hiver 2016-2017. Les résultats suggèrent que les mouvements des animaux lors de la mise en œuvre des abattages préventifs pouvaient représenter un risque important de contamination environnementale, attesté par la détection de génome viral d'influenza aviaire sur des caisses et des véhicules avant le processus de décontamination, dans quelques cas par la persistance de cette présence après la décontamination, et par la mise en évidence de la possibilité d'une contamination croisée de caisses lors du processus de décontamination.

Mots clés : influenza aviaire, IAHP, H5N8, volailles, canard, décontamination, véhicules

Abstract

Effectiveness of decontamination of crates and trucks used for duck transport: field observations during the avian influenza H5N8 epizootic, France 2017

The validation of the decontamination process of crates and trucks used for poultry transport appeared to be a key issue for the professionals since the first avian influenza crisis in France in winter 2015-2016. This study focused on the control of the decontamination process of transport trucks and crates used for the preventive culling of duck flocks. Eight sampling series were carried out in four abattoirs during the HPAI H5N8 winter 2016-2017 epizootic. The results suggested that movements of animals generated during preventive culling could contribute to environment contamination, evidenced by avian influenza viral RNA detection on trucks and crates before decontamination, in few cases by the persistence of that detection on crates after decontamination process and by the possibility of cross-contamination of crates during the decontamination process.

Keywords: Avian Influenza, HPAI, H5N8, Poultry, Duck, Decontamination, Fomites

Pour lutter contre la diffusion de l'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) H5N8 dans les élevages de volailles du Sud-Ouest de la France durant l'hiver 2016-2017, un abattage préventif des palmipèdes a été mis en place par les autorités sanitaires (arrêté du 4 janvier 2017). La possibilité d'envoyer les oiseaux concernés par le dépeuplement dans des abattoirs réquisitionnés a entraîné le transport d'un nombre important de canards depuis les exploitations vers les abattoirs. Afin de prévenir tout risque de diffusion de l'IAHP durant ces mouvements, des mesures spécifiques de biosécurité ont été adoptées pour le transport des oiseaux (arrêté du 31 mars 2017 et note de service DGAL/SDSPA/2017-1 du 6 janvier 2017). Ces mesures imposaient notamment « le nettoyage et la désinfection [des véhicules et équipements utilisés pour le transport] dans les plus brefs délais après le déchargement » et « une vérification visuelle et microbiologique régulière de l'efficacité des opérations de nettoyage et de désinfection », dont la mise en œuvre était confiée au responsable du transport. La validation de la décontamination des caisses et des moyens de transport soulève de nombreuses interrogations chez les professionnels depuis la première crise d'IA en 2015. Cet article présente les résultats de contrôle de la décontamination des caisses et véhicules de transport obtenus lors de deux missions réalisées par l'Anses EBEAC (Unité Epidémiologie et bien-être en aviculture et cuniculture), entre le 24 janvier et le 1^{er} février 2017 et entre le 17 et le 20 mars 2017, dans le contexte du dépeuplement des élevages de palmipèdes du Sud-Ouest.

MATERIEL ET METHODE

Le principe de cette étude d'observation était de comparer la fréquence d'isolement de génome viral d'IA sur les camions, les caisses de transport des canards et l'environnement d'abattage avant et après décontamination (Tableau 1). Le protocole de nettoyage et désinfection (N&D) est défini et appliqué par l'abatteur et/ou le transporteur; les informations sur ce

protocole ont été relevées par l'enquêteur au moyen d'un questionnaire standardisé. Sept séries de prélèvements ont été réalisées dans quatre abattoirs, localisés dans le Gers (A, B), les Landes (C) et les Pyrénées-Atlantiques (D). Deux à quatre camions ont été étudiés par visite, le même véhicule étant suivi avant et après décontamination. Les prélèvements n'ont pas été faits sur les mêmes caisses avant et après décontamination mais chaque lot de cages en provenance d'un camion a été contrôlé aux deux stades. Les caisses ont été échantillonnées à l'aide d'une chiffonnette stérile sèche (Sodibox, France) frottée sur la moitié du fond de caisse et de deux écouvillons secs (Copan, Italie) appliqués sur l'intérieur et l'extérieur de la cage. Pour les camions, un prélèvement consiste en une chiffonnette passée sur au moins un mètre linéaire. Les aires bétonnées ont été contrôlées avec une paire de pédichiffonnettes stériles. Les prélèvements ont été acheminés le jour même dans un laboratoire agréé pour le criblage de l'IA. La recherche de génome viral a été réalisée individuellement sur chaque prélèvement par rRT-PCR gène M et gène H5 selon la méthode officielle (Spackman et al., 2002). Pour les besoins de l'étude, un prélèvement est considéré comme positif vis-à-vis de l'IA si la présence de gène M est détectée : ceci montre la présence de génome de virus IA, sans information complémentaire sur le ou les sous-types impliqués, leur capacité infectante ou leur pathogénicité. La détection du gène H5 permet de conclure à la présence d'ARN viral d'un ou de plusieurs virus IA de sous-type H5.

Tableau 1. Prélèvements réalisés pour recherche de génome de virus IA sur les camions et caisses de transport de canards (N=590, France)

Abattoir	Date	Nb camions	Avant décontamination						Après décontamination					
			Caisse	Camion			Aire ³	Tot	Caisse	Camion			Aire	Tot
				Ext ¹	Roue	Cabine ²				Ext	Roue	Cabine		
A	24/01	4	60	3	3	9	4	79	60	4	4	12	6	86
A	27/01	2	30	2	2	6	2	42	30	2	2	6	2	42
B	26/01	4	60	4	4	12	1	81	60	4	4	12	2	82
B	30/01	2	30	3	2	6	1	42	30	2	2	6	2	42
C	01/02	2	30	2	2	6	1	41	30	2	2	6	2	42
D	17/03	2	20	4		2	1	27	20	4		2	2	28
D	20/03	2	20	4		2	2	28	20	4		2	2	28
Total général		18	250	22	13	43	12	340	250	22	14	46	18	350

¹ bas de caisse, hayon et plateau

² volant, pédales et poignée

³ aires de déchargement et de lavage des véhicules

A, B : Gers, C : Landes, D : Pyrénées-Atlantiques

RESULTATS ET DISCUSSION

Les procédures de décontamination sont décrites dans le tableau 2. Si le protocole pour les camions est relativement similaire dans les quatre sites étudiés, des différences importantes ont été notées pour les caisses : les procédures dépendent du matériel disponible (laveuse, système de trempage). Le choix des équipements de lavage est très fortement conditionné par la place

disponible sur l'aire de N&D des cages. L'espace dédié à la décontamination des caisses apparaît parfois aussi insuffisant pour mettre en place les barrières sanitaires entre zones sale (réception) et propre (chargement) et éviter les croisements de circuits. Il est également difficile de bien séparer les circuits des camions entre déchargement, lavage et chargement, faute de place sur les sites. Les produits désinfectants utilisés dans les abattoirs A et D (glutéraldéhyde, ammoniums IV) et B (ammonium IV) sont actifs contre les virus IA aux doses utilisées ; pour le produit de l'abattoir B, l'activité contre l'IA est garantie à 20°C par le fabricant pour la concentration employée mais les jours d'observation, la température était inférieure à 5°C sur le quai de lavage et désinfection. Pour l'abattoir C, les informations sur les produits utilisés n'étaient pas encore disponibles lors de l'écriture de l'article.

Tableau 2. Protocoles de décontamination des caisses et véhicules de transport appliqués dans trois abattoirs de canards du Sud-Ouest dans le contexte d'abattage préventif contre l'IA (France, 2017)

Abattoir	A	B	C	D
Camion extérieur	- Désinfection des roues par pulvérisation à l'entrée - Décapage HP - Une désinfection par pulvérisation - Désinfection des roues par pulvérisation à la sortie	- Désinfection des roues par pulvérisation à l'entrée - Décapage HP - Une désinfection par pulvérisation - Désinfection des roues par pulvérisation à la sortie	- Désinfection des roues par pulvérisation à l'entrée - Décapage HP - Une désinfection par pulvérisation	- Rotoluve avec désinfectant à l'entrée - Décapage HP à 60°C - Une désinfection par moussage - Rotoluve avec désinfectant à la sortie
	- Pulvérisateur de désinfectant à disposition	- Pas de décontamination		
Caisse	- Tunnel lavage BP - Détergent pendant quelques secondes - Rinçage	- Quai lavage avec système écartement des caisses - Lavage BP - Trempage à 80°C pendant 5 sec.	- Tunnel lavage BP - Détergent pendant quelques secondes - Rinçage	- Prélavage BP à 60°C avec détergent - Trempage à 60°C, 20 sec. avec détergent
	- Si caisse non propre après lavage, décapage HP			
	- Une désinfection par pulvérisation - Reprise de la désinfection après nettoyage complémentaire si nécessaire	- Une désinfection par pulvérisation	- Une désinfection par pulvérisation - Reprise de la désinfection après nettoyage complémentaire si nécessaire	- Désinfection par immersion (20°C) - Reprise de la désinfection après nettoyage complémentaire si nécessaire

BP : basse pression, HP : haute pression

Sur un total de 341 prélèvements réalisés avant nettoyage et désinfection, 86 se sont révélés positifs vis-à-vis du gène M en RT-PCR temps réel, marquant la présence de génome de virus IA de type A, soit 25 %. Ces résultats positifs ont été trouvés lors de cinq visites (Tableau 3), dans des proportions très variables selon les sites (0 à 63 %). La majorité des détections concernait les caisses (74/86, 86%) mais sept camions sur les dix-huit prélevés au moment du déchargement ont aussi été détectés positifs sur leur extérieur ou leur intérieur ; ces véhicules transportaient tous des caisses détectées positives. La détection du gène H5 a été observée pour quinze de ces 86 prélèvements positifs pour le gène M, essentiellement sur les caisses de transport des canards sur le site D le 17 mars (11/20, 55 %). Le gène H5 a aussi été retrouvé dans l'abattoir A sur les aires de lavage et de déchargement (n=3) et sur le châssis et bas de caisse d'un camion du site D. Les journées de prélèvements ont été programmées en fonction de contraintes logistiques alors que le statut des lots abattus était encore inconnu (sauf le 17 mars avec un lot détecté contaminé H5N8 IAHP à l'élevage sans signe clinique). Il aurait été plus intéressant de pouvoir cibler systématiquement l'abattage de lots infectés pour mieux évaluer l'efficacité de la décontamination. Il a pu être néanmoins établi *a posteriori* qu'au moins trois visites correspondaient à l'abattage de troupeaux infectés, ce qui a mené à l'observation d'une contamination importante des caisses mais aussi des camions avant N&D.

Tableau 3. Résultats positifs de recherche par RT-PCR temps réel de gène M







Prélèvements réalisés avant et après décontamination des caisses, véhicules de transport et aires bétonnées dans trois abattoirs du Sud-Ouest (142 prélèvements positifs, France, 2017)

Abattoir	Date	Camion	Localisation	Avant	Après	Commentaires	
A	24/01	1	Cabine	N.T	3/3	Contamination résiduelle élevée	
			ext. camion	N.T	1/1		
		2	Caisse	14/15	10/15		
			cabine	1/3	0/3		
			Roue	0/1	1/1		
			Caisse	9/15	6/15		
		3	Ext. camion	1/1	0/1		Contamination résiduelle élevée
			Caisse	15/15	5/15		
		4	Cabine	0/3	1/3		Possibilité d'une contamination croisée
			Caisse	9/15	7/15		Contamination résiduelle élevée
	Aire	1/4	3/6				
27/01	1	Ext. camion	0/1	1/1	Possibilité d'une contamination croisée		
		Aire	2/2	0/2			
B	26/01	1	Cabine	1/3	0/3		
			Caisse	7/15	4/11		
		2	Ext. camion	1/1	1/1		
			Caisse	6/15	5/15		
		3	Cabine	1/3	1/3		

		Caisse	1/15	2/15	
	4	Ext. camion	1/1	0/1	
		Roue	1/1	0/1	
		Caisse	1/15	2/15	
		Aire	1/1	0/2	
30/01	1	Caisse	0/15	1/15	Possibilité d'une contamination croisée
	2	Caisse	0/15	1/15	
		Aire	1/1	0/2	
D 17/03		Cabine	0/1	1/1	
	1	Ext. camion	1/2	0/2	
		Caisse	9/10	0/10	Caisse bien décontaminées
	2	Cabine	0/1	1/1	Possibilité d'une contamination croisée
		Caisse	2/10	0/10	

N.T : non testé

Légendes

	Camion initialement contaminé mais non détecté positif après décontamination (hors caisse)
	Camion non détecté positif avant décontamination (hors caisse) mais positif après
	Contamination initiale détectée
	Pas de contamination résiduelle détectée sur une surface initialement positive
	Contamination résiduelle d'une surface initialement positive
	Contamination résiduelle d'une surface non détectée positive avant décontamination

Après décontamination, 56 prélèvements sur les 350 effectués (16 %) ont montré la présence du gène M d'IA. Des échantillons positifs ont été détectés lors des cinq visites où du génome viral avait été trouvé avant N&D. Le gène H5 a été détecté quatre fois dans l'abattoir A, sur deux caisses et l'aire de lavage lors de la première visite et sur le châssis d'un camion lors de la seconde journée.

Comme avant N&D, la présence de génome viral M a surtout été observée sur des caisses : respectivement 15 % (14/90) et 18 % (29/160) d'échantillons positifs par chiffonnage et par écouvillonnage sur cages. Ceci concerne particulièrement deux visites lors desquelles les caisses avaient été détectées positives avant lavage. Plus étonnant, deux caisses, appartenant à des chargements distincts, ont aussi été contrôlées positives après décontamination à l'abattoir B le 30 janvier bien qu'aucune présence initiale n'ait été détectée (0/30). Ce résultat a été observé avec un lavage manuel à basse pression, alors que les autres sites utilisent des laveuses ou tunnel de lavage pour cette étape. De plus, une étape de trempage apparemment insuffisamment maîtrisée (eau sale) malgré une température élevée (80°C) pourrait être à l'origine d'une contamination croisée des cages. Les dix camions étudiés durant ces trois visites sont repartis avec un lot de cages positif. Au contraire, aucune présence résiduelle d'ARN d'IA n'a été détectée sur les caisses lors de la visite du 17 mars à l'abattoir D alors que 60 % (12/20) des prélèvements étaient positifs avant N&D (transport de lots reconnus infectés par IA H5N8 HP). L'efficacité de la

décontamination pourrait être attribuée à un protocole de nettoyage en trois phases (prélavage, trempage, détergence), uniquement appliqué dans cet abattoir.

Huit camions (sur 18 suivis) étaient positifs vis-à-vis du gène M après décontamination. Trois de ces camions n'avaient pas été détectés positifs avant N&D ; deux d'entre eux ont été contrôlés positifs à l'intérieur de la cabine (les chauffeurs avaient participé au déchargement des canards). A l'opposé, trois camions où la présence de génome d'IA a été trouvée avant décontamination n'ont pas été détectés positifs après nettoyage et désinfection.

Cette étude présente plusieurs limites, liées notamment à la difficulté de la réalisation d'observations durant une période de crise sanitaire. D'une part, un long délai de prise en charge des prélèvements par le laboratoire d'analyses a été observé pour trois visites (le 27 janvier dans les abattoirs A et C, le 1^{er} février dans l'abattoir C, le 17 mars dans l'abattoir D) à cause d'un volume très important d'échantillons à traiter. Pour ces visites, une faible proportion de prélèvements positifs (0 à 2 %) a été obtenue, sans qu'il soit possible de savoir si cette situation était liée à l'absence de contamination ou à un biais analytique. La portée de l'étude se trouve donc limitée par cette difficulté. D'autre part, le nombre d'échantillons par camion a été déterminé pour permettre à un enquêteur de prélever le maximum d'échantillons sans perturber le rythme normal de fonctionnement de l'abattoir. Les contraintes logistiques ont donc prévalu sur l'optimisation du plan d'échantillonnage. Enfin la recherche des gènes M et H5 par rRT-PCR ne permet pas de savoir si l'ARN détecté correspond à un virus infectieux. L'avantage de cette méthode est sa mise en œuvre plus rapide et plus simple que l'isolement viral, la rendant intéressante pour le suivi de la contamination environnementale et l'évaluation de l'efficacité de la décontamination. Malgré les limites identifiées, le protocole de prélèvement proposé a montré que : 1) du génome viral peut être détecté en de nombreux points lors de l'abattage de lots contaminés, 2) le génome viral n'est pas systématiquement détecté lors de l'abattage de lots indemnes, 3) une positivité résiduelle peut être mise en évidence par cette méthode. Ces observations tendent à prouver que le chiffonnage-écouvillonnage couplé à la rRT-PCR gène M est un protocole adapté pour l'évaluation de l'efficacité de la décontamination même si aucun lien direct ne peut être établi avec un risque infectieux.

Les visites réalisées durant la période d'abattage préventif ont permis de constater la réelle implication des abattoirs réquisitionnés dans la maîtrise du risque de diffusion de l'IA : des mesures spécifiques avaient été mises en place sur tous les sites comme exigé réglementairement, au-delà d'une simple adaptation des pratiques habituelles. Les résultats après décontamination dans un des abattoirs de l'étude montrent qu'il est possible de réduire fortement une éventuelle contamination initiale. Cependant, les protocoles de nettoyage et désinfection se sont avérés insuffisants dans deux des abattoirs fortement contaminés. Les camions repartis étaient positifs au niveau de leur chargement de caisses et de l'intérieur et/ou de l'extérieur du véhicule. La variabilité de ces résultats peut s'expliquer par des différences de contamination initiale, de protocoles de décontamination et de maîtrise de leur application. La

réussite de la décontamination semble en partie liée aux moyens mis en œuvre, avec notamment l'utilisation de laveuses, mais aussi à l'espace dédié à cette activité qui dans l'idéal devrait être suffisamment vaste pour installer le matériel de nettoyage et éviter des croisements entre zone propre et zone sale (caisse, personnel). La positivité des cabines de camion après nettoyage et désinfection est très certainement due à l'absence de protection (bottes, gants spécifiques) des chauffeurs lors du déchargement et d'un protocole strict de nettoyage de l'intérieur des véhicules. Le contrôle de la contamination résiduelle par chiffonnage-écouvillonnage couplé à la rRT-PCR gène M est une méthode de surveillance de l'efficacité du nettoyage et désinfection adaptée à la gestion du risque d'IA en abattoir, qui peut être facilement utilisée dans le cadre d'un plan de maîtrise par les professionnels. Il doit être couplé au contrôle visuel de la propreté des caisses et des camions au moyen d'une grille standardisée (non réalisée dans cette étude faute de moyens humains). Le lien entre les résultats de contrôle par recherche de génome viral d'IA et par dénombrement de microorganismes indicateurs de la qualité de la décontamination (pratiqué dans certains abattoirs) devra à terme être aussi exploré, afin de disposer d'un moyen complémentaire de mesure de l'efficacité de la désinfection des caisses et des camions de transport des volailles.

Remerciements

Les auteurs remercient le Dr Mattias Delpont de l'Ecole vétérinaire de Toulouse pour son aide lors de la réalisation des visites, les abattoirs ayant accepté les visites ainsi que les DDecPP des départements concernés.

Références bibliographiques

Arrêté du 4 janvier 2017 relatif aux mesures complémentaires techniques et financières pour la maîtrise de l'épizootie d'influenza aviaire due au virus H5N8 dans certains départements
<https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2017/1/4/AGRG1700293A/jo/texte>.

Arrêté du 31 mars 2017 déterminant des dispositions de prévention, de surveillance et lutte complémentaires contre l'influenza aviaire hautement pathogène dans certaines parties du territoire
<https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2017/3/31/AGRG1710381A/jo/texte>.

DGAL/SDSPA/2017-1032 du 04/01/2017 : Précisions sur les mesures d'abattage préventif de palmipèdes dans certains départements définies par l'arrêté du 4 janvier 2017 suite à la circulation de virus influenza aviaire H5N8
Spackman E., Senne D.A., Myers T.J., Bulaga L.L., Garber L.P., Perdue M.L., Lohman K., Daum L.T., Suarez D.L. 2002. Development of a Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Type A Influenza Virus and the Avian H5 and H7 Hemagglutinin Subtypes. Clin. Microbiol. 40, 3256–3260.