

# Impact des protocoles de biosécurité

Par Mark Alistair BEGHIAN<sup>1</sup>, Franck FOULON<sup>2</sup>, Franck FOESSER<sup>3</sup>

## Impact des protocoles de désinfection en bâtiments d'élevage sur l'émergence de populations bactériennes résistantes aux désinfectants et aux antibiotiques Corrélation avec l'efficacité des traitements antibiotiques

Trois pathologies d'origine bactérienne préoccupent les professionnels de l'élevage et les autorités sanitaires. Les risques liés à *Salmonella* et *Campylobacter* impactent non seulement la santé humaine mais également la rentabilité économique des filières avicoles et porcines. En ce qui concerne le SARM (*Staphylococcus Aureus Résistant à la Méthicilline*), sa diffusion en Europe dans la filière porcine invite l'ensemble des acteurs à repenser la prophylaxie du porc.

La France présente un bilan contrasté suivant les filières et doit faire un effort notable pour réduire ses niveaux de contamination. (Tableau 1)

**La nouvelle réglementation Européenne** sur la prévalence de *Salmonella* prévoit l'absence de salmonelle sur les produits à base d'œufs dès le 1er janvier 2009 et sur les produits frais à base de volaille dès le 1er janvier 2011 (EC-2160/2003). En ce qui concerne la séroprévalence à *Salmonella* en élevage avicole et en pouleuse, elle doit être inférieure à 1 % par pays dès 2012.

Le niveau des importations et des exportations dans chaque pays de l'UE sera affecté pour partie par ce taux de prévalence national, nouvel outil de régulation. Aujourd'hui, la France s'en trouve fragilisée au sein de L'Union Européenne.

**Le bilan de l'antibiorésistance en France, à l'instar de l'Union Européenne, est préoccupant. L'AFSSA, qui**

Prévalence de *Salmonella*, SARM et *Campylobacter* dans les élevages porcins et avicoles en France et dans l'Union Européenne, d'après EFSA (European Food Safety Authority) (1/2)

Pathogènes	Espèce	Evaluation	U.E.	France	rang / 28	Sources
SARM	Porc	% de carcasses infectées	14,0%	1,9%	10	EFSA, 2008
<i>Salmonella</i> sp	Porc	% de carcasses infectées	10,3%	18,1%	6	EFSA, 2008
<i>Salmonella</i> sp	Dinde	% de lots infectés	30,7%			EFSA, 2008
<i>Salmonella</i> sp	Dinde, parent	% de lots infectés	13,9%			EFSA, 2008
<i>Salmonella</i> sp	Poules Pondeuses		30,8%	17,2%		EFSA, 2007
<i>Salmonella</i> sp	Poulet	% de carcasses infectées	15,6%	7,4%	14	EFSA, 2008
<i>Campylobacter</i>	Poulet	% de lots infectés	71,2%	76,1%	9	EFSA, 2008
<i>Campylobacter</i>	Poulet	% de carcasses infectées	75,8%	88,7%	5	EFSA, 2008

Tableau 1

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

coordonne le programme de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries d'origine animale (septembre 2009), rapporte des souches résistantes aux céphalosporines dans la filière avicole. Environ 10 % des souches sont résistantes à l'acide nalidixique. En filière porcine, la moitié des souches sont résistantes aux sulfamides (figure 1). Le tableau 2 montre la proportion de souches multirésistantes de *Salmonella*. La proportion y est plus forte en filière porcine.

### Usage des désinfectants en élevage

L'occurrence des pathologies en élevage est souvent aléatoire et erratique. Un bâtiment d'élevage positif sur un lot ne sera pas forcément positif à chaque lot. Les voies de contamination sont nombreuses et connues mais le rôle joué par les biofilms est, sans doute, largement sous-estimé. La lutte contre *Salmonella*, *Campylobacter* ou le

SARM en élevage repose sur une approche systémique et l'accent doit être mis sur les mesures de prophylaxie, de maîtrise sanitaire et l'hygiène. Les antibiotiques et les désinfectants (biocides) sont les pierres

angulaires de ce dispositif. Mais l'efficacité des protocoles de désinfection est souvent mise en échec du fait de la nature des biofilms bactériens sur les surfaces des bâtiments d'élevage. Les biofilms constituent une

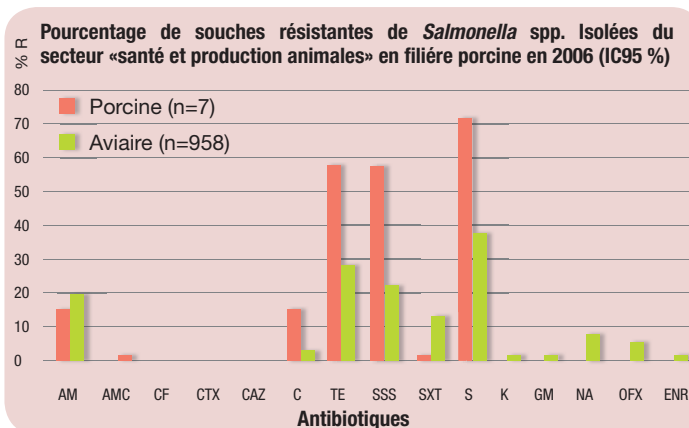


Figure 1

Répartition du pourcentage de souches multi-résistantes de *Salmonella* spp. Isolées du secteur «santé et production animales» en 2005

Nb souches	21 Porc	1087 Volaille
Nb de résistance		
0	4.8 [0.1 - 23.8]	37.7 [55.0 - 60.4]
1	42.9 [21.8 - 66.0]	30.5 [27.7 - 33.3]
2	9.5 [1.2 - 30.4]	7.4 [5.9 - 9.1]
3	19.1 [5.5 - 41.9]	6.2 [4.8 - 7.8]
4	19.1 [5.5 - 41.9]	3.8 [2.8 - 4.7]
5	4.8 [0.1 - 23.8]	9.7 [8.0 - 11.6]
>5	0.0 [0.0 - 13.3]	4.9 [3.7 - 6.3]

Tableau 2

Source : réseau «Salmonella»

<sup>1</sup> Consultant en Biosécurité, Unitec - Italie

<sup>2</sup> Pharmacien-responsable marché biocides, Noe-France

<sup>3</sup> Ingénieur expert en Biosécurité, DuPont de Nemours - Europe

stratégie de survie de la part des micro organismes. Cet état leur confère de nombreux avantages dont la protection contre les agressions du milieu extérieur. Les biofilms constituent une source de contamination particulièrement difficile à éliminer car, parmi les nombreux avantages qu'ils confèrent aux bactéries, figure en particulier la résistance aux désinfectants.

**La résistance des bactéries biofilmées** est attribuée à un effet barrière d'ordre stérique, ionique, chimique et enzymatique. Cet effet barrière provoque le ralentissement de la diffusion des désinfectants dans le biofilm et leur destruction partielle ou totale. Une autre cause importante tient au fait que les bactéries sont dans un état quiescent qui rend la membrane bactérienne moins perméable et moins sensible à l'action de nombreux désinfectants. De plus, toute condition d'environnement défavorable conduit les cellules à déréguler les gènes responsables de la synthèse de protéines particulières dites «protéines de résistance».

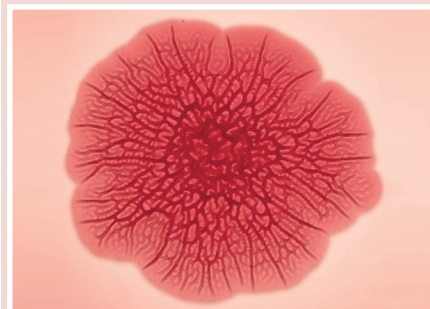
**De nombreuses études ont montré que la résistance des biofilms** aux désinfectants est très supérieure à

ment des biofilms. Vestby démontre enfin la forte corrélation positive entre la persistance de la souche dans l'environnement et l'importance du biofilm (3).

### Quand les antibiotiques et les désinfectants s'associent pour sélectionner les flores

Depuis plusieurs années, l'hypothèse d'un lien direct entre l'exposition à certaines familles de désinfectants et l'apparition de résistances aux antibiotiques se confirme. De même, l'exposition à des antibiotiques peut conférer une perte de sensibilité aux désinfectants. Plusieurs études montrent en effet que les mécanismes cellulaires qui induisent la résistance aux antibiotiques et aux désinfectants sont les mêmes. Ils impliquent principalement les mécanismes de transports excréteurs comme la pompe *acrAB-TolC*. L'équipe de docteur L.P. Randall démontre ainsi que ce type de mécanismes contribue à créer une résistance intrinsèque aux désinfectants de la famille des ammoniums quaternaires, des glutaraldéhydes et des phénols (Tableau 3). Randall conclut également sur un lien direct, voire une cause, entre l'exposition à

### Pour en savoir plus



Salmonella forming a biofilm on an agar plate  
Photo: Nesse & Vestby, National Veterinary Institute

**Le biofilm** est une mosaïque de micro-niches où l'on ne rencontre pas seulement différentes espèces mais aussi différents phénotypes d'une même espèce bactérienne. La cohésion de cette communauté microbienne variée est maintenue grâce à des propriétés d'interactions synergiques. Cette notion de communauté reflète les nombreuses interactions qui peuvent exister entre les bactéries : sécrétions enzymatiques, échanges de matériel génétique (plasmides de résistances), interactions métaboliques et communication cellulaire. Les cellules des biofilms représentent des systèmes biologiques dotés d'un niveau complexe d'organisation fonctionnelle.

Souche	Agent de sélection	Sensibilité aux antibiotiques						Sensibilité aux désinfectants							
		CMI (mg/L)						Durée (min) pour une réduction de 5 log				CMI (% v/v)			
		CIP	CHL	TET	EtBr	AF	KAN	OXC (0.6%,v/v)	ABD (0.025%,v/v)	DSD (0.2%,v/v)	Phenol (0.075%,v/v)	OXC	ABD	DSD	PFD
L354	NA(parent)	0.015	4	1	1024	128	2	8.2 ± 0.8				0.4	0.025	0.1	0.2
OXC-1	OXC	0.015	8	0.5	1024	128	2	11.5 ± 1				0.8			
L358	NA(parent)	0.5	>256	128	1024	256	2	12.1 ± 0.2				0.8	0.025	0.8	0.2
ABD-1	ABD	2	>256	256	1024	256	2	14.2 ± 0.7				0.025			
L378	NA(parent)	4	>256	256	2048	256	2			38 ± 3.2		0.4	0.025	1.6	0.2
DSD-1	DSD	4	>256	128	1024	256	2			34 ± 2.1				>3.2	
L108	NA(parent)	<0.015	1	0.5	16	8	>32			15 ± 0.8		0.4	0.006	<0.003	0.025
DSD-2	DSD	<0.015	1	0.5	16	8	>32			25 ± 1.2				0.12	
L357	NA(parent)	0.015	2	1	512	128	2				14.5 ± 0.5	0.4	0.025	0.1	0.2
PFD-1	PFD	0.015	4	1	1024	128	8				6.2 ± 0.3				0.2

Produit à base de : OXC = Oxydant ABD = Aldéhyde DSD= Ammonium Quaternaire PFD = Phénol

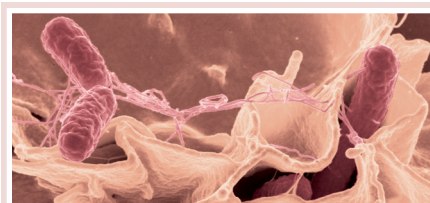
Tableau 3 : 5 souches de *Salmonella* ont été sélectionnées avec 4 familles différentes de désinfectants et comparées deux à deux avec leur souche parente (NA). L'effet noté porte d'abord sur la baisse de sensibilité à certains antibiotiques. Une réexposition de chaque souche aux différentes familles de désinfectant montre elle aussi une baisse de sensibilité et/ou un temps d'action plus long.

celle de cellules en suspension (bactéries isolées). Les aspects biochimiques et génétiques de la résistance extra chromosomique (plasmides) sont bien documentés, notamment en ce qui concerne les ammoniums quaternaires, les aldéhydes, les phénols ou la Chlorhexidine.

*Salmonella* présente la capacité d'intégrer un biofilm complexe et diversifié. Ses biofilms sont plus ou moins développés en fonction du serovar. Des études *in vitro* (Vestby, 2009) montrent que *Salmonella ser Agona, Montevideo, Senftenberg et Typhimurium* produisent plus ou moins facile-

ment des doses sub-létales de ces désinfectants et l'apparition de souches multi-résistantes aux antibiotiques (4).

**Le biofilm est une entité complexe et performante** de protection des bactéries vis-à-vis des agressions extérieures comme les désinfectants. Il est en équilibre dynamique et peut évoluer vers une organisation microbienne particulièrement défavorable pour l'élevage. Les salmonelloses récurrentes ou erratiques sont symptomatiques d'une expression de tels biofilms. L'usage systématique d'une même classe de désinfectant, notamment les ammoniums et les glutaral-



**Les salmonelles** sont des bactéries Gram-, mobiles, anaérobie facultative qui font partie de la famille des Enterobacteriaceae. Elles cultivent à des températures comprises entre 7 et 48°C, mais peuvent proliférer à des températures inférieures à 4° C. *Salmonella* s'adapte à des pH acides, des conditions sèches et chaudes et peut survivre plusieurs mois sur des surfaces.

déshydrates, favorisent la sélection d'une flore microbienne pathogène (5). La résistance aux désinfectants est due, au moins en partie, aux mêmes mécanismes que ceux impliqués dans la résistance aux antibiotiques.

## Quelle est la réponse adaptée ?

Il est impératif lors des opérations de Nettoyage / Désinfection d'utiliser une première étape de détergence qui vise à dissoudre et éliminer, non seulement les dépôts organiques visibles, mais également une partie de la gangue de protection du biofilm. En l'absence d'un détergent, le désin-

fectant élimine les bactéries les plus superficielles mais reste sans activité dans la profondeur du biofilm. Si la résistance aux désinfectants des bactéries biofilmées concerne la plupart des classes chimiques de biocides une étude récente portant sur l'efficacité des désinfectants sur biofilms montre que quelques rares produits seulement, dont le Virkon® (Dupont DAHS), conservent une activité significative (6).

Virkon® est un désinfectant de premier choix utilisé par de nombreux professionnels qui privilégient ces propriétés d'efficacité et de sûreté vis-à-vis des virus (Circovirus, Astrovirus, Parvovirus... ) et bactéries résistantes.

## Efficacité du Virkon sur Biofilm à salmonelle

Virkon® a été testé sur biofilm à *Salmonella* (Tableau 4). Moretro a comparé l'activité de 9 désinfectants couramment utilisés en production animale. Ces 9 produits sont représentatifs de toutes les familles chimiques de désinfectants (ammonium quaternaire, aldéhyde, phénol, peroxygène, acide peracétique). Cette étude porte sur les variations d'efficacité des produits sur 2 serovars de *Salmonella* en fonction de leurs états (en solution, sur surface sèche ou sous forme de biofilm) (7).

Produits testés à la concentration commerciale	En suspension (EN1276)		Sur surface (EN13697) (traité avec 0.1 ml)		Sur biofilm (traité dans 6 ml)	
	Salmonella ser Agona	Salmonella ser Senftenberg	Salmonella ser Agona	Salmonella ser Senftenberg	Salmonella ser Agona	Salmonella ser Senftenberg
QAC (1 matière active) + acide	✓	✓	✗	<1.1	<1.9	<1.5
QAC (2 matières actives) + acide	✓	✓	<1.8	<1.4	✓	<1.9
QAC + Aldéhyde	✓	✓	<1.7	<1.5	<2.5	✗
Aldéhyde + Ethanol	✓	✓	<2.2	<2.4	✗	✗
Hypochlorite	✓	✓	✗	✗	✗	✗
Peroxygène + acide acétique	✓	✓	✗	✗	✓	✓
Faible dosage	✓	✓	✗	✗	✓	✓
Peroxygène + acide acétique (composition similaire Hyperox®)	✓	✓	<1.8	<1.75	✓	✓
Virkon®	✓	✓	<2.4	<1.5	✓	✓
Ethanol	✓	✓	✓	✓	<3.1	✓

Tableau 4 : Toutes les familles de désinfectants sont efficaces sur les salmonelles en suspension (réduction de plus de 5 log). Moretro et al. montrent, cependant, des différences significatives entre les désinfectants sur les salmonelles constituées en biofilm. «Sur biofilms, seuls un produit à base de 70 % d'alcool et Virkon® sont efficaces quelque soit la forme de *Salmonella*.»

## Pour en savoir plus

Le SARM, désormais courant en milieu hospitalier, était responsable de 37 % des cas fatals de septicémie au Royaume-Uni en 1999, soit 4 % de plus qu'en 1991. En 2003, il était responsable de près des deux-tiers des septicémies à staphylocoques aux Etats-Unis (8). La moitié des staphylocoques dorés aux Etats-Unis sont résistants à la pénicilline, la méticilline, la tétracycline et l'érythromycine. En 2005, les deux tiers des infections non hospitalières à staphylocoques concernent des souches résistantes à la méticilline (9). En Europe en 2010, l'EFSA estime que les principaux réservoirs animaux du SARM sont les cochons, veaux, et poulets de chair. Les infections sont parfois discrètes ou tout à fait asymptomatiques. Parmi les lignées de SARM, la souche « CC398 » est la plus souvent associée à un portage asymptomatique. Là où le CC398 est fréquent chez des animaux, les éleveurs, vétérinaires, et leurs proches risquent plus la colonisation et l'infection que la population générale (10).

**Virkon®**  
Générateur de Biosécurité



## Conclusion

Réduire l'occurrence de salmonelloses ou de populations bactériennes résistantes dans les élevages doit passer par des évolutions de comportements. Le programme de biosécurité et le choix du désinfectant influent directement et peuvent optimiser les stratégies sanitaires, en évitant la sélection des flores bactériennes résistantes aux antibiotiques.

Le respect d'un protocole complet (Nettoyage/Détergence/Désinfection) et l'alternance des familles chimiques (ammonium quaternaire + glutaraldéhyde, phénol et oxydant) doivent devenir la règle. De même, les stratégies de double désinfection (surface et volume) sont particulièrement performantes, en choisissant deux familles chimiques différentes de désinfectants, bien sûr. L'utilisation de Virkon®, un puissant peroxygène, est souvent la solution ad-hoc pour rééquilibrer le microbiome de l'élevage en évitant une sélection de flores.

## Références

- 1 - Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU 2008, Published on 2010, The EFSA Journal (2010) 8(03):1503, 1-99
- 2 - Analysis of the baseline survey on the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008, EFSA Journal 2010; 8(6):1597
- 3 - Vestby L K, Biofilm formation by *Salmonella* from the Norwegian feed industry - with attention to potential persistence and eradication, The Norwegian School of Veterinary Science, Department of Food Safety and Infection Biology, 2009, 56 pages
- 4 - Randall L. P. et al, Commonly used farm disinfectants can select for mutant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium with decreased susceptibility to biocides and antibiotics without compromising virulence, Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2007) 60, 1273-1280
- 5 - K.O. Gradel et al. Possible associations between *Salmonella* persistence in poultry houses and resistance to commonly used disinfectants and a putative role of mar. / Veterinary Microbiology 107 (2005) 127-138.
- 6 - Patricia M. Stanley, PhD. Efficacy of peroxygen compounds against glutaraldehyde-resistant mycobacteria. AJIC Am J Infect Control 1999;27:339-43
- 7 - Moretro T. et al, Evaluation of efficacy of disinfectants against *Salmonella* from the feed industry, Journal of applied Microbiology ISSN 1364-5072, 1005-1012
- 8 - Kleivens M, Morrison MA, Nadle J, Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States, JAMA, 2007;298:1763-1771
- 9 - Kleivens RM, Edwards JR, Tenover FC et Als. <http://www.journals.uchicago.edu/CID/journal/issues/v42n3/38050/38050.html>. Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in U.S. hospitals, 1992-2003, Clin Infect Dis, 2006;42:389-391
- 10 - Assessment of the Public Health significance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods Question number: EFSA-Q-2008-300 Adopted: 5 March 2009