

# COMPARAISON DE L'EFFICACITE DE DEUX TYPES DE PROTOCOLES DE NETTOYAGE DESINFECTIION DES ELEVAGES DES LAPINS DE CHAIR EN ROUTINE OU EN PROTOCOLE RENFORCE

**J. Fontaine<sup>1\*</sup>, S. Boucher<sup>2</sup>,**

<sup>1</sup> *FILI@VET (Réseau Cristal), 7 Rue des Artisans, 79300 BRESSUIRE*

<sup>2</sup> *LABOVET Conseil (Réseau Cristal), BP 539 85505 LES HERBIERS cedex*

\* Auteur correspondant : [j.fontaine@reseaucristal.fr](mailto:j.fontaine@reseaucristal.fr)

**Résumé** – Cette étude porte sur l'efficacité des protocoles de nettoyage et de désinfection dans les élevages de lapins de chair, en particulier en cas de maladie chronique. Elle analyse les résultats obtenus avec l'utilisation de boîtes contact pour détecter les agents pathogènes dans différentes zones des bâtiments d'élevage. Les méthodes de nettoyage de routine dans les élevages ne permettent pas d'éliminer efficacement les agents pathogènes, ce qui pourrait expliquer la persistance de certaines maladies comme la VHD (Viral Hemorrhagic Disease). Il est conseillé d'adopter un protocole de nettoyage renforcé en cas de maladie chronique et de contrôler plus rigoureusement l'efficacité de la désinfection, en particulier avec des boîtes contact pour tester la flore totale dans les zones les plus à risque.

**Abstract** – Comparison of the effectiveness of two types of cleaning and disinfection protocols in routine or strengthened protocols for meat rabbit farms – This study focuses on the effectiveness of cleaning and disinfection protocols in meat rabbit farms, particularly in cases of chronic disease. It analyzes the results obtained using contact plates to detect pathogens in various areas of the farming buildings. Routine cleaning methods in farms are not sufficient to effectively eliminate pathogens, which may explain the persistence of certain diseases such as VHD (Viral Hemorrhagic Disease). It is recommended to adopt a strengthened cleaning protocol in cases of chronic disease and to monitor the effectiveness of disinfection more rigorously, particularly with contact plates to test total flora in high-risk areas.

## Introduction

La production cunicole française est majoritairement organisée sur un cycle de production des femelles tous les 42 jours (Pedro *et al.*, 2024). Les lapins de chair sont en général sevrés à 33/35 jours et vendus en moyenne à 72,6 jours (données RENACEB 2024). Les éleveurs ont donc en routine, 5 à 6 jours pour nettoyer, désinfecter et sécher le bâtiment avant le sevrage du lot suivant. Lorsqu'une maladie se déclare, l'agent pathogène n'est pas toujours éliminé dans ce laps de temps, ce qui peut parfois expliquer le caractère chronique de certaines affections, les animaux se recontaminant au contact de l'environnement.

## 1. Matériel et méthodes

L'étude porte sur des élevages professionnels de lapins de chair dans lesquels on a réalisé un nettoyage complet d'une des salles. Nous avons contrôlé le protocole par des prélèvements effectués en vue d'analyses bactériologiques à l'aide de boîtes contact. Les résultats de ces analyses réalisées en 2023 et 2024 ont été extraits et analysés. L'étude inclut 19 élevages dans lesquels nous avons relevé 3 protocoles différents :

- Simple brûlage au chalumeau après dépoussiérage
- Lavage à l'eau et application de désinfectant homologué à la dose bactéricide conseillée, puis vide de la salle de 2 à 3 jours (ND)
- Nettoyage et désinfection renforcés : méthodologie visée par un vétérinaire (Corrége *et al.*, 2003) en tout point de l'élevage avec application de détergent, double désinfection (Maris., 1989) et vide sanitaire supérieur à 1 semaine.

Ce dernier protocole était préconisé lors de maladie chronique identifiée, et les prélèvements n'étaient réalisés qu'après un contrôle visuel favorable.

Selon les dossiers d'analyse, le nombre de prélèvements dépendait du nombre de zones testées par le vétérinaire ou le technicien. Les boîtes contact utilisées étaient destinées à rechercher selon les cas :

- ▶ la flore totale (FT) : Boîtes contact avec milieu gélosé PCA + TTC
- ▶ les streptocoques (ST) : Boîtes contact avec milieu gélosé Slanetz et Bartley
- ▶ les coliformes (CT) : Boîtes contact avec VRBL agar

Toutes les boîtes présentaient une solution neutralisante des désinfectants.

Pour réaliser le prélèvement, l'opérateur se lavait soigneusement les mains et enfilaient un gant en latex.

Puis il appliquait la face gélosée avec une force constante pendant 10 secondes sur la surface plane à contrôler, visuellement propre et sèche.

Les boîtes étaient ensuite mises en incubation à 37°C pendant 24h puis le nombre de colonies par boîte était compté. Les résultats étaient attendus selon l'abaque ci-dessous (Fig. 1).



**Figure 1 : Interprétation des résultats proposée par le fabricant**

381 analyses de boîtes contact « flore totale », 190 de boîtes « coliformes totaux » et 221 boîtes « streptocoques fécaux » ont été utilisées au total. Par simplification, les données ont été rassemblées en 3 catégories : résultats acceptables de 0 à 10 colonies par boîte, mauvais de 11 à 150 colonies par boîte, non satisfaisant au-delà de 150 colonies par boîte. Les zones testées sont présentées plus loin (Tab. 1). Le faible nombre de prélèvements réalisés sur les congélateurs et bacs à équarrissage nous ont poussé à écarter cette zone dans notre présentation. Néanmoins des études ont montré que les aires bétonnées autour des bâtiments et le bac d'équarrissage sont souvent insuffisamment décontaminés (Huneau-Salaün *et al.*, 2019 et 2023).

Une analyse statistique par un test de  $\chi^2$  ou de Fischer a été utilisée pour comparer les protocoles appliqués sur le nombre de résultats bactériologiques conformes obtenu, pour chaque type de boîte, et tester la différence de répartition des résultats des géloses selon les zones pour 2 protocoles : le protocole ND (Nettoyage Désinfection) et ND renforcé.

ZONE	Descriptif, exemples	Nombre de boîtes
ALIMENTATION	Mangeoires, trémies	164
MATERIEL CONTACT LAPIN	Toute zone accessible pour les animaux: parois de logement, nuitée, nid, ...	274
SURFACES INTERIEUR BÂTIMENT	Matériel structurel de la salle d'élevage: parois, murs, plafond, cloison en GV ...	141
VENTILATEUR	Systèmes d'extraction d'air	70
ANNEXES BÂTIMENT	Matériel structurel hors salle d'élevage (sas, local de stockage..)	31
FOSSE	Surface en contact direct avec les déjections: racleurs, fosse...	64
GESTION CADAVRES	Congélateur, bac à équarrissage...	12

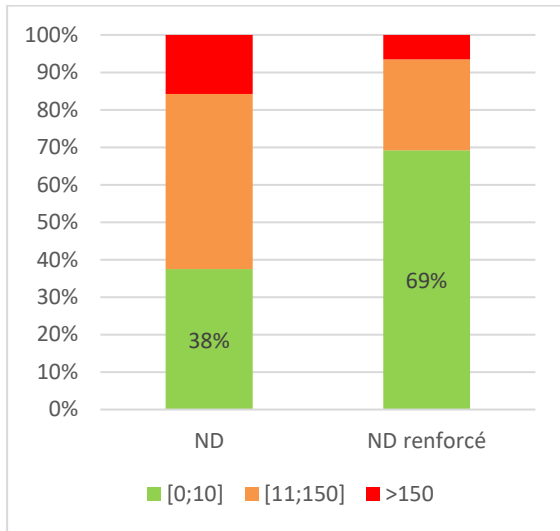
**Tableau 1 : Répartition des zones de prélèvements lors de l'application des protocoles ND et ND renforcés**

**2. Résultats**

**2.1. Les boîtes contact**

Sur les 3 types de boîtes contact nous avons relevé les résultats suivants :

**2.1.1 Boîtes « flore totale »**



**Figure 2 : Répartition en % des résultats en flore totale selon les protocoles**

Le protocole ND renforcé permet d'obtenir un nombre significativement supérieur de résultats conformes en flore totale (p-value<0.01). Toutes zones de prélèvements confondues, les résultats sont conformes dans 69% des cas (Fig. 2).

**2.1.2 Boîtes « coliformes totaux »**

Les résultats des boîtes contact « coliformes totaux » sont à 97% conformes et significativement meilleurs à la suite d'un protocole de ND renforcé en comparaison avec un lavage à l'eau et une désinfection à dose homologuée (ND) qui n'obtient que 88% de bons résultats (p-value de 0.038<0.05).

**2.1.3 Boîtes « streptocoques fécaux »**

100% des résultats sont conformes avec le protocole ND renforcé, qui apparait plus efficace avec une p-value<0,01. Le nettoyage à l'eau avec désinfection (protocole ND) n'est satisfaisant par contrôles des streptocoques fécaux que dans 92% des cas.

**2.2 Choix du type de boîtes contact**

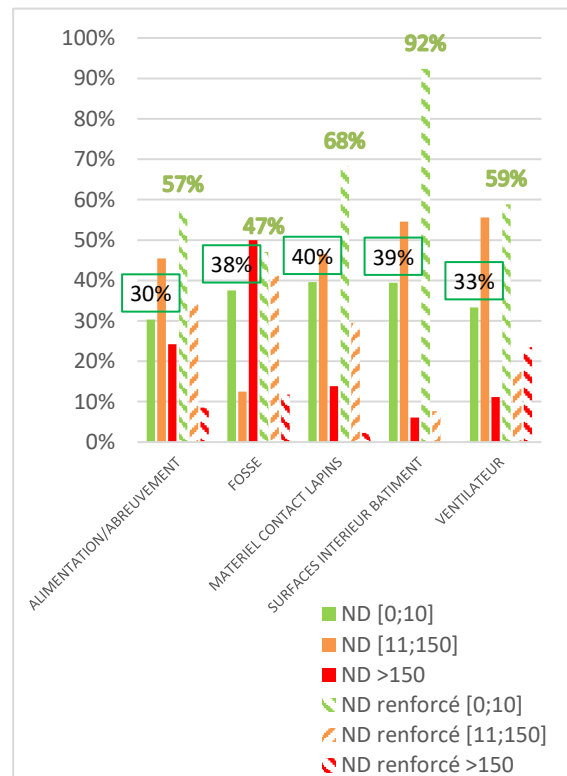
On constate qu'il y a moins de résultats conformes pour les boîtes non sélectives de flore totale par

rapport aux autres types de boîtes contact plus sélectives (Tab. 2).

En %	ND			ND renforcé		
	FT [0;10]	CT [0;10]	SF [0;10]	FT [0;10]	CT [0;10]	SF [0;10]
ALIMENTATION/ABREUVEMENT	30	44	100	57	100	100
FOSSE	38	100	50	47	93	100
MATERIEL CONTACT LAPINS	40	100	97	68	100	100
SURFACES INTERIEUR BATIMENT	39	80	90	92	96	100
VENTILATEUR	33	80	78	59	87	100

**Tableau 2 : pourcentage de résultats conformes (note de 0 à 10) pour chaque protocole selon le type de boîte contact et la zone de prélèvement**

Pour le paramètre « flore totale », le nombre de colonies compris entre 0 et 10 est toujours plus fréquent avec un protocole renforcé, et ce, de façon significative (p-value de 0,01). La p-value est < 0,01 pour ce qui concerne le matériel d'alimentation, le matériel en contact avec les animaux, et les surfaces à l'intérieur de la salle d'élevage (Fig. 3).



**Figure 3 : Résultats des boîtes contact « flore totale » en fonction des zones et du protocole**

### 3. Discussion

On isole significativement ( $p$ -value toujours  $<0,05$ ) moins de bactéries (flore totale, streptocoques fécaux et coliformes totaux) dans les élevages qui ont mis en œuvre un protocole de ND renforcé.

En pratique, l'efficacité d'un protocole de nettoyage et de désinfection peut s'appuyer sur plusieurs constats complémentaires :

-une approche visuelle (sous forme d'audit): on vérifie scrupuleusement l'absence de résidus de matière organiques visibles, et ce, dans chaque recoin du bâtiment. (Fig. 4)

-la réalisation de chiffonnettes ou d'écouvillons est également un moyen de valider l'absence d'agent pathogène défini (bactérie ou virus), par bactériologie ou PCR. Le laboratoire pourra conclure « présence » ou « absence » sur le prélèvement pour le germe recherché.

-les boîtes contact sont des milieux de culture bactérienne spécifiques à appliquer sur une surface à tester selon un plan de prélèvements préétabli. On considère qu'une surface bien nettoyée et désinfectée ne contiendra plus de bactéries revivifiables collectées par les boîtes. La recherche de la flore totale, des streptocoques fécaux et des coliformes, naturellement présents dans le tube digestif des lapins, et résistants dans le milieu extérieur, sont de bons indicateurs.

Cette méthode de contrôle limite néanmoins l'interprétation de l'efficacité du protocole qu'en un point correspondant à la surface de la boîte pour la zone de prélèvement. Seules les surfaces planes peuvent être testées car elles permettent un ensemencement et donc un comptage de colonies sur l'ensemble de la gélose. Les grillages et caillebotis sont donc difficilement testables. La décontamination d'autres agents pathogènes (virus...) n'est évaluée que par extrapolation.

Les prélèvements de la catégorie ND renforcés n'ont été réalisés qu'après un contrôle visuel favorable. Les éleveurs étaient donc sensibilisés à l'importance d'utiliser un détergent qui permet de décoller les salissures, puis de réaliser 2 désinfections. De plus, ils avaient en général plus de temps car le site ne contenait plus d'animaux. La méthodologie ND renforcée avec un protocole formalisé sur un grand nombre de zones contenues dans l'unité de production, ainsi qu'un audit visuel en amont des prélèvements, améliorent l'ensemble des résultats, quels que soit les milieux de culture choisis.

Lors d'opérations de ND, les vétérinaires conseillent habituellement des protocoles dits « renforcés »

permettant d'éliminer l'ensemble des agents pathogènes d'un élevage ainsi que les insectes vecteurs. Ces protocoles nécessitent pour leur mise en œuvre du temps et de la minutie. Les éleveurs ne peuvent matériellement pas les appliquer en routine car la présence d'animaux, le temps disponible et l'énergie à déployer ne sont pas compatibles avec leurs autres activités. C'est pourquoi des méthodes simplifiées ont vu le jour. Notre étude montre que ces méthodes simplifiées (ND) ne sont pas satisfaisantes et n'éliminent pas les bactéries, et sans doute aussi les virus. En effet, on a pour habitude de dire que si une boîte contact ne révèle pas de bactérie présente sur le matériel, si l'éleveur a utilisé un désinfectant bactéricide et virucide à la bonne dose, alors les virus ont également disparu. Il est possible mais difficile et onéreux de rechercher spécifiquement les virus par PCR sur le matériel. Nous ne le faisons qu'en cas de maladie virale avérée dans l'élevage.

Les boîtes contact utilisant la culture de flore totale sont plus discriminantes que les coliformes totaux ou streptocoques fécaux pour juger d'une procédure rigoureuse. En effet, parfois avec un simple dépoussiérage puis brûlage de la zone, et très souvent sur un protocole simple ND, les milieux de recherche de coliformes totaux ou de streptocoques fécaux révèlent une analyse microbiologique satisfaisante.

En utilisant les boîtes « flore totale » il apparaît que les zones les plus difficiles à nettoyer et désinfecter sont les mangeoires, les logements, fosses et extracteurs d'air, et pour ces 2 derniers, le protocole ND renforcés n'est significativement pas différent ; cela provient probablement de la complexité des matériaux comme l'ont observé Fate *et al.* (1984), de leur accessibilité, du niveau de contamination initiale et de leur position non hermétique avec le milieu extérieur. A contrario, les surfaces intérieures et les annexes du bâtiment offrent généralement de bons résultats.

Concernant les choix des intervalles d'interprétation en nombres de colonies, il est d'usage de considérer un résultat comme « très bien » ou « bien » entre 0 et 10. Cela reste un critère dépendant du niveau d'exigence attendu. Lors du repeuplement d'un site d'élevage avec un cheptel neuf, les options doivent être plus strictes, du fait de la valeur des animaux et du risque de les contaminer avec un agent pathogène résiduel.



**Figure 4 : Vue de dessous d'une mangeoire après nettoyage de routine lors d'un contrôle visuel (non conforme)**

### Conclusion

On constate avec cette étude que les procédés de nettoyage et de désinfection habituellement mis en œuvre dans les élevages de lapins en routine ne sont pas suffisants pour éliminer les agents pathogènes. Cela pourrait en partie expliquer les récurrences nombreuses constatées ces dernières années lors des épidémies de VHD.

Cette étude nous conduit à préconiser de renforcer la méthodologie du nettoyage et de la désinfection en cas de maladie chronique, mais surtout de mieux contrôler leur efficacité en utilisant au minimum des boîtes contact recherchant la flore totale dans les zones les plus à risque comme les mangeoires, les logements des animaux, et les systèmes de ventilation. D'autres analyses complémentaires (analyse d'eau, chiffonnettes) permettraient également de vérifier la désinfection de zones spécifiques.

### Remerciements

Merci à Samuel Sauvaget pour son aide pour la partie statistique.

### Références

Beer K., Methling W., Melhorn G. & Erwerth W. 1980 Effectiveness of prophylactic cleaning and disinfection of surfaces in calf houses and piggeries. *Monatsh. Veterinaermed*, 35, 84-90

Boucher S., Nouaille L., 2013. Nettoyage, désinfection et vide sanitaire In *Maladies des lapins* Ed France Agricole Paris, 307-330.

Corrégé I., De Azevedo Araujo C., Le Roux A., 2003. Mise au point d'un protocole de contrôle du nettoyage et de la désinfection en élevage porcin. *Journées Recherche Porcine*, 35, 419-426.

De Castro Burbarelli, M. F., do Valle Polycarpo, G., Deliberali Lelis, K., Granghelli, 2017. Productive performance, microbiological assessment and characterization. *Poult. Sci.* 96, 3188–3198.

Fate M.A., Skeeles J.K., Whitfill C.E. & Russel LD. (1985) Evaluation of four disinfectants under poultry grow-out conditions, contact agar sampling technique. *Poult. Sci.* 64, 629-633

Gosling B., 2018. A review of cleaning and disinfection studies in farming environments. *Livestock* 23(5):232-23

Huneau-Salaün A., Boucher S., Fontaine J., Le Normand B., Lopez S., Maurice T., Nouvel L., Bruchec A., Coton J., Martin G., Le Gall-Reculé G., Le Bouquin S., 2019. Etudes épidémiologiques rétrospectives sur la maladie hémorragique virale RHDV2 dans les élevages cunicoles en France, entre 2013 et 2018. E-book 18èmes Journées de la Recherche Cunicole, 27 – 28 mai 2019, Nantes, France

Huneau-Salaün A., Guillou-Cloarec C, Thomas R, Dusseux J, Poulain G, Chastagner A, Gillet E, Le Gall-Reculé G., Le Bouquin S., 2023. Maîtriser les récurrences de VHD dans les élevages cunicoles français : premiers enseignements du projet SURVRECI. E-book 19èmes Journées de la Recherche Cunicole, 22 & 23 mars 2023, Le Mans, France

Itavi 2022, Fiches de biosécurité en élevage de lapins, [www.itavi.asso.fr](http://www.itavi.asso.fr)

Jiang L, Li M, Tang J, Zhao X, Zhang J, Zhu H, Yu X, Li Y, Feng T, Zhang X. , 2018. Effect of Different Disinfectants on Bacterial Aerosol Diversity in Poultry Houses. *Front Microbiol.* 9:2113.

Le Minor L., Richard C., 1993. Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Ed Institut Pasteur, 84-89

Linton A.H., Hugo W.B. & Russell A.D., 1987.- Disinfection in veterinary and farm animal practice. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 335 pp.

Maris P., 1989. Contrôle de la désinfection dans les bâtiments d'élevages avicoles. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 20 (3), pp.309-317.

Maris P., Ribouchon J.L. & Perrin G., 1982. Etude comparative de l'activité bactéricide des antiseptiques et désinfectants par micro-méthode et par méthode de dilution-neutralisation (NF T 72-150 et T 72-170). *Rev. Inst. Past. Lyon*, 15, 253-261

Morgan-Jones S., 1981. Cleaning and disinfection of farm buildings. In *Disinfectants: their use and evaluation of effectiveness* (C.H. Collins, M.C. Allwood, S.F. Bloomfield & A. Fox, édit.). Academic Press, Londres, 199-212.

Pedro V., Fourdin S., 2022. L'élevage du lapin de chair en France : Résultats technico-économiques 2022. Tema Avril-Mai-Juin 2024 - n° 69

Shields RP, Schramm B, Braune NE, 1979. Evaluation of room cleaning procedures in a laboratory animal facility. *Lab Anim.* 13(3):253-6