



Choix de méthodes de contrôle pour valider le nettoyage et la désinfection de camions de transport de porcs

Isabelle CORRÉGÉ (1), Eric GAULT (1), Mireille LE DIMNA (2), Gaëtan PINSARD (2), Charlie CADOR (3),
Marina BRICHET-PIQUET (4), Olivier BOURRY (2)

(1) IFIP – institut du porc, 9 boulevard du Trieux, 35740 Pacé, France

(2) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Virologie Immunologie Porcine, Zoopôle,
BP 53, 22440 Ploufragan, France

(3) Farmapro, 6A Parc d'activité du Carrefour de Penthievre, 22640 Plestan, France

(4) Groupe Bigard, Zone Industrielle de, All. de Kergostiou, 29300 Quimperlé, France

isabelle.correge@ifip.asso.fr

Choix de méthodes de contrôle pour valider le nettoyage et la désinfection de camions de transport de porcs

Les transports de porcs représentent un risque important de propagation ou d'introduction de maladies sur un territoire. La situation épidémiologique européenne de la Peste Porcine Africaine nécessite de maîtriser au mieux cette étape. Le transport des animaux est également susceptible de jouer un rôle dans la transmission d'agents zoonotiques alimentaires comme *Salmonella*. Un nettoyage-désinfection efficace des camions associés à des contrôles de la qualité de réalisation est donc indispensable. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'intérêt de différentes méthodes de contrôle de l'efficacité du nettoyage-désinfection des camions applicables en routine et également des indicateurs permettant de s'assurer de son efficacité vis-à-vis de l'élimination des virus. Les méthodes testées sont des PCR permettant la détection du génome de deux biomarqueurs, l'adénovirus porcin et *Clostridium spp.*, la notation visuelle de la propreté, la mesure de l'ATP résiduel, le dénombrement de flore totale par boîtes contact, la mesure du biofilm par coloration et la détection des protéines par test rapide colorimétrique. Dix sites différents de 30 camions ont été prélevés après nettoyage-désinfection sur des surfaces juxtaposées. Les résultats de ces différentes analyses ont été comparés entre eux. La notation visuelle permet de caractériser le lavage tout comme le test protéine. La boîte contact et l'ATP méttrie donnent des résultats relativement proches mais perfectibles. La PCR vis-à-vis du génome de l'adénovirus porcin permet d'évaluer l'efficacité vis-à-vis des virus et semble intéressante dans un contexte de risque de Peste Porcine Africaine.

Choice of control methods to validate the cleaning and disinfection of pig transport lorries

Transporting pigs is a major risk for the spread of disease or the introduction of new pathogens into an area. The epidemiological situation of African swine fever in Europe means that this stage needs to be controlled as effectively as possible. Animal transport is also likely to influence the transmission of food-borne zoonotic agents such as *Salmonella* and hepatitis E. Effective cleaning and disinfection (CD) of lorries, along with quality control, is therefore essential. The aim of this study was to assess the value of different methods for determining the effectiveness of CD of lorries that can be applied routinely, as well as indicators to ensure effectiveness in eliminating viruses. The six methods tested were using PCRs to detect the genome of two biomarkers (porcine adenovirus and *Clostridium spp.*), visually assessing cleanliness, measuring residual adenosine triphosphate (ATP), total bacteria counts in Petri dishes, measuring biofilm using staining and detecting proteins using a rapid colorimetric test. Ten sites on each of 30 lorries were sampled after CD on adjacent surfaces. The results of these analyses were compared to each other. Visual scoring and the protein test gave similar results and can be used to characterize the cleaning. The total bacteria count in Petri dishes and ATP measurement yielded relatively similar results, but it remains room for improvement. Porcine adenovirus PCR was a relevant indicator for determining the effectiveness of CD for viruses and appears promising in the context of African Swine Fever risk.

INTRODUCTION

Le transport des porcs est un des principaux risques de transmission de maladies entre pays, régions ou élevages. La situation européenne de la Peste Porcine Africaine nécessite de maîtriser au mieux cette étape afin de préserver le statut indemne de la France (BHVSI-SA, 2024). Sur les quelques cas déclarés en France de Diarrhée Épidémique Porcine (DEP) avec des souches hypo virulentes de type INDEL, trois sont liés à un transport de porcs (Rose, 2018). Lors de l'épidémie de DEP de 2014 aux USA, il a été montré que la contamination entre élevages se faisait principalement par le transport de porcs (Lowe *et al.*, 2014). Le déplacement de porcs joue également un rôle dans la transmission d'agents zoototiques alimentaires, en particulier *Salmonella* (Rossel *et al.*, 2002 ; Fravalo *et al.*, 2003). L'organisation de la production porcine en France et les échanges intracommunautaires génèrent un nombre important de mouvements nationaux et internationaux de porcs. En 2014, 158 000 transports de porcs ont été réalisés entre deux points de l'hexagone et 4 800 camions ont transporté des porcs entre la France et les autres pays de l'Union Européenne, auxquels s'ajoutent les flux importants entre pays de l'UE qui transitent via la France (Corrégé, 2015).

Les réglementations françaises et européennes imposent le nettoyage et la désinfection des véhicules après chaque transport d'animaux (Arrêté ministériel du 29 avril 2019). De nombreuses publications s'accordent sur l'importance du nettoyage-désinfection des camions mais font également le constat que ces opérations sont loin d'être optimisées en raison de la pénibilité des opérations, d'impératifs économiques ou de l'absence d'installations appropriées permettant un lavage et une désinfection efficaces des véhicules (Weber et Meemken, 2018). Depuis 2016, l'Ifip réalise des audits des aires de lavage des camions de transport d'animaux à partir d'une grille standardisée. Ces audits mettent en avant la nécessité d'améliorer les équipements des aires de lavage et les protocoles de nettoyage-désinfection appliqués mais également de mettre en œuvre des contrôles de l'efficacité du nettoyage-désinfection avec des résultats immédiats.

Aujourd'hui, deux types de méthode de contrôle de l'efficacité des opérations de nettoyage-désinfection sont utilisés sur le terrain : le contrôle visuel et le contrôle microbiologique, le plus souvent par dénombrement de la flore mésophile totale par boîte contact (Corrégé et Rugraff, 1998 ; Corrégé *et al.*, 2010). Néanmoins, ces méthodes ne permettent pas d'apprécier l'efficacité du protocole appliqué sur la charge virale alors qu'il peut-être plus difficile d'éliminer par désinfection un virus qu'une bactérie.

Cette étude a pour objectifs d'évaluer l'intérêt de différentes méthodes de contrôle de l'efficacité des opérations de nettoyage-désinfection des camions de porcs répondant à deux critères, (i) être rapides, fiables et peu coûteuses pour les opérateurs, (ii) permettre d'apprécier l'efficacité des opérations vis-à-vis des virus.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Méthodes de contrôle testées

1.1.1. Dénombrement semi-quantitatif de la flore totale

Les boîtes contacts (55 mm de diamètre) contenant le milieu gélosé Hygicount avec inhibiteurs de désinfectant ont été appliquées pendant 15 secondes avec une légère pression.

Après mise à l'étuve à 30°C pendant 48 heures les bactéries, les levures et les moisissures ont été comptées (Anses, Laboratoire de Ploufragan). Le nombre maximum de colonies pouvant être comptées étant de 300, au-delà, les boîtes ont été classées « indénombrable » et la valeur de 300 colonies leur a été attribuée. Pour chaque boîte contact, une note a également été attribuée selon le nombre de colonies (1 : ≤ 10 ; 2 : 10-50 ; 3 : 50-150 ; 4 : > 150).

1.1.2. Mesure de l'ATP résiduelle

L'ATP méttrie permet la quantification de l'ATP (Adénosine 5' Tri-Phosphate) résiduelle par une réaction de bioluminescence entre la luciférine, la luciférase et l'ATP présente dans l'échantillon prélevé. Le kit d'ATP méttrie Dendridiag® (GLBIOCONTROL, France) a été utilisé. Après écouvillonnage d'une surface de 20 cm² et préparation de l'échantillon selon la notice du fabricant, les valeurs fournies par l'appareil ont été converties en pg ATP/cm².

1.1.3. Détection des résidus protéiques

Le test rapide utilisé, le 3M™ Clean-Trace™ Protein Test®, est un test de détection des résidus de protéines basé sur la réaction de Biuret. Après hydratation de l'écouillon, écouvillonnage (20 cm²) et insertion de l'écouillon dans le tube contenant la solution colorimétrique, la couleur est notée selon quatre modalités en fonction de la présence ou non de protéines.

1.1.4. Appréciation de la propreté visuelle

La notation visuelle semi-quantitative de la propreté a été réalisée selon la méthode Ifip (Corrégé *et al.*, 2010). Elle consiste à frotter une lingette humide sur la surface à contrôler (taille A3) et à noter la propreté de 1 à 4 en fonction d'une échelle visuelle.

1.1.5. Détection du biofilm

Le groupe Realco, en Belgique, a développé un kit de détection des biofilms par colorimétrie. Cette méthode consiste à appliquer un colorant bleu sur la surface à contrôler puis une solution de nettoyage et à noter la persistance du biofilm à l'aide d'une grille de notation préétablie (notes de 1 à 7).

1.1.6. Méthodes PCR

Deux biomarqueurs pertinents de contamination des camions de transport de porcs identifiés dans une précédente étude (Le Dimna *et al.*, 2025) ont été recherchés à l'Anses-Laboratoire de Ploufragan par polymerase chain reaction (PCR) : l'adénovirus porcin (PAdV) avec une PCR adaptée par l'Anses- Laboratoire de Ploufragan et *Clostridium spp.* (kit PCR ADNucleis®). La PCR *Clostridium spp.* a été réalisée avec les acides nucléiques dilués au 1/10 et la PCR PAdV avec les acides nucléiques non dilués. Ces deux analyses PCR ont été réalisées à partir d'une même chiffonnette additionnée de 10 ml d'eau peptonée (Sodibox®) appliquée sur la surface à contrôler (taille A3). Les résultats sont exprimés en Ct (Cycle threshold). Pour les prélèvements avec une absence de génome détectable, la valeur de Ct attribuée est celle du nombre maximum de cycle de la méthode, soit 40 Ct pour la PCR PAdV et 42 Ct pour la PCR *Clostridium spp.*

1.2. Plan de prélèvements

L'étude s'est déroulée dans trois abattoirs sur des camions de cinq organisations de transport, ce qui conduit à cinq couples abattoir-transporteur. Les prélèvements ont été réalisés sur 30 camions dans l'heure suivant leur nettoyage-désinfection au cours de cinq journées, par quatre personnes préalablement formées. Dix sites de contrôle ont été prélevés sur chaque camion : rampe de chargement, deux sols, deux parois latérales

côté intérieur, deux barrières de séparation, deux plafonds et une paroi extérieure. Pour chaque site, les six prélèvements visant à comparer les sept méthodes de contrôle ont été réalisés sur des zones très proches. La comparaison des méthodes repose donc sur l'hypothèse qu'un site présente une contamination superficielle homogène sur toute sa surface (contamination initiale identique et nettoyage-désinfection réalisée de façon similaire). La notation du biofilm n'a pas pu être réalisé sur les plafonds, les parois extérieures (peinture carrosserie), sur les rampes de chargement (surfaces trop foncées pour visualiser la coloration) et sur les camions d'un transporteur avec des surfaces recouvertes de plastique qui pouvaient garder la coloration bleue.

1.3. Analyses statistiques

L'analyse des données a été réalisée avec le logiciel SAS (SAS Inst. Inc., v 9.4). L'analyse de variance a été utilisée pour les variables quantitatives (GLM, Ismeans) et le test non paramétrique de Wilcoxon pour les variables qualitatives. Les coefficients de corrélation de Pearson ont également été utilisés.

2. RESULTATS

2.1. Moyennes et facteurs de variation du niveau de contamination

Tableau 2 – Facteurs influençant les niveaux de contamination obtenus avec les différentes méthodes de contrôle

Paramètres	ATP, pg	PCR PAdV ¹ , Ct	PCR Clostridium, Ct	BC, colonie	Note visuelle	Note biofilm	Note protéine
Facteurs influençant les niveaux de contamination : test statistique							
Camion (n = 30)	< 0,05 ²	< 0,05	< 0,05	< 0,05	ns	< 0,05	< 0,05
Abattoir-transporteur (n = 5)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Sites prélevés (n = 5)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	ns	< 0,05
Jour (n = 5)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	ns	< 0,05	< 0,05
Couple abattoir-transporteur : moyenne et test statistique							
Couple A	37,2 a ³	35,7 a	30,5 a	127,9 a	2,4 a	2,3 a	2,1 a
Couple B	8,6 ab	35,0 ab	26,8 b	75,6 ab	2,2 ab	2,0 a	1,9 a
Couple C	12,8 a	34,0 b	26,7 b	73,0 ab	2,2 ab	2,8 b	2,6 b
Couple D	7,7 b	36,7 c	28,2 b	39,3 b	1,8 b	2,3 ab	1,9 a
Couple E	8,5 b	35,1 ac	27,8 b	83,6 ab	2,3 ab	nc	2,3 b
Site prélevé : moyenne et test statistique							
Barrière séparation	11,5 a	35,7 a	29,5 a	85,5 a	1,6 a	2,3	1,8 a
Paroi extérieure	6,9 a	39,9 b	31,9 b	8,0 b	2,0 ab	nc	1,5 a
Paroi intérieure	4,3 b	35,7 a	27,6 c	46,4 b	2,4 b	2,3	2,3 b
Plafond	56,8 d	32,9 c	25,4 d	117,2 a	3,4 c	nc	2,9 c
Rampe de chargement	25,3 c	35,2 a	29,8 a	203,9 c	1,7 a	nc	2,2 b
Sol	18,5 c	37,3 d	32,0 b	122,5 d	1,7 a	2,3	1,7 a

¹Abréviations : PAdV : adénovirus porcin, BC : boîte contact, nc : non calculé, ns : non significatif. ²<0,05 différence significative au seuil de 5 %. ³Des lettres différentes dans une même colonne signifie une différence significative (p < 0,05)

2.2. Relation entre les méthodes de contrôle : corrélation et mises en classes

2.2.1. Corrélation

Les corrélations entre les méthodes ne sont pas toutes significatives et les coefficients de corrélation (r) sont plutôt faibles (Tableau 3). Ce sont les méthodes note protéine et PCR PAdV qui sont les mieux corrélées avec les autres : corrélations significatives et coefficients respectivement de 0,18 à 0,49 et de 0,19 à 0,67. L'ATP présente des coefficients assez faibles (environ 0,25) et n'est pas corrélée avec la PCR Clostridium et la note biofilm. La note biofilm n'est pas corrélée avec quatre méthodes et pour les deux autres, PCR PAdV et note biofilm, les coefficients sont très bas (r<0,19). Les boîtes contact sont peu

Les moyenne, écarts-type, minimum et maximum de chaque méthode sont présentés dans le tableau 1. En PCR, les pourcentages de prélèvements avec du génome détectable sont de 77 % pour le PAdV et de 97 % pour Clostridium spp.

Tableau 1 – Moyenne, écart-type, minimum et maximum des sept méthodes de contrôle du nettoyage-désinfection

Méthodes	N	Moy.	ET ¹	Mini.	Maxi.
ATP, pg	264	21,5	62,2	0,1	500,0
PCR PAdV, Ct	300	35,7	3,1	28,4	40,0
PCR Clostridium, Ct	300	29,1	4,1	21,4	42,0
BC, colonie	292	95,1	126,8	0,0	300,0
Note BC	292	2,2	1,3	1,0	4,0
Note visuelle	300	2,2	1,1	1,0	4,0
Note biofilm	156	2,3	0,6	1,0	4,0
Note protéine	300	2,1	0,9	1,0	4,0

¹Abréviations : ET : écart-type, BC : boîte contact, PAdV : adénovirus porcin, Clostridium : Clostridium

Les niveaux de contamination obtenus avec les différentes méthodes diffèrent significativement selon les camions (sauf pour la note visuelle), les couples abattoir-transporteur (sauf pour la note biofilm), les sites de prélèvement (sauf pour la note biofilm) et les jours (sauf pour la note visuelle) (Tableau 2). Néanmoins pour les couples abattoir-transporteur, les différences de niveau de propreté n'évoluent pas dans le même sens pour les différentes méthodes testées. A l'inverse les résultats par site de prélèvements des différentes méthodes testées sont plus convergents.

corréllées avec les autres méthodes : trois non significatives et trois dont les coefficients de corrélation sont bas (r<0,35).

Tableau 3 – Coefficients de corrélation

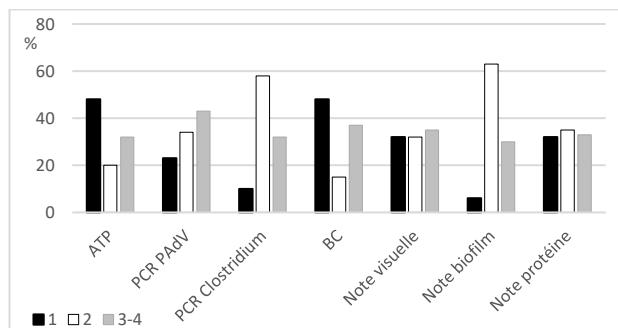
Coefficient corrélation	PCR PAdV ¹	PCR Clostridium	BC	Note visuelle	Note biofilm	Note protéine
ATP	- 0,19	ns	0,25	0,27	ns	0,29
PCR PAdV		0,67	- 0,35	- 0,42	- 0,19	- 0,47
PCR Clostridium			ns	- 0,41	ns	- 0,45
BC				ns	ns	0,26
Note visuelle					ns	0,49
Note biofilm						0,18

¹Abréviations : PAdV : adénovirus porcin, BC : boîte contact

2.2.2. Mises en classes

Les bornes des classes des variables quantitatives ont été choisies en fonction de la distribution des données et des critères d'interprétation disponibles pour chaque méthode (Tableau 4). Les notes ou les classes varient du moins contaminé (note 1) au plus contaminé (notes 3 ou 4). Pour cette analyse, les notes 3 et 4 des méthodes ont été regroupées. Les répartitions par classe montrent des différences de diagnostic relativement importantes et variables selon les méthodes comparées.

La représentation des pourcentages des notes obtenues avec chacune des méthodes (Figure 1) montre que les pourcentages de sites notés propres (note 1) sont très variables selon les méthodes (de 6 à 48 %). A l'inverse, les pourcentages de sites sales (notes 3 ou 4) sont assez proches pour les différentes méthodes (de 30 à 43 %).



Abréviations : PAdV : adénovirus porcin, BC : boîte contact

Figure 1 – Comparaison des méthodes de contrôle : pourcentage de sites contrôlés par note

Tableau 4 – Comparaison des méthodes de contrôle : pourcentage de sites contrôlés par note

Méthodes		PCR Clostridium, Ct			PCR PAdV ¹ , Ct			ATP, pg		
		1 ≥ 34	2]27 ; 34[3 ≤ 27	1 ≥ 40	2]35 ; 40[3 ≤ 35	1 ≤ 3	2]3 ; 10[3 ≥ 10
Note visuelle	1	65	38	12	47	43	16	38	33	21
	2	29	32	34	37	28	32	31	39	31
	3 - 4	6	31	55	16	29	52	31	28	48
BC, colonie	1	61	42	52	61	52	37	54	47	38
	2	26	18	7	29	13	9	11	17	18
	3 - 4	13	40	41	10	35	54	35	36	44
Note biofilm	1	4	7	3	14	3	2	3	11	8
	2	61	65	60	70	53	70	69	69	52
	3 - 4	35	28	37	16	44	28	28	20	40
Note protéine	1	68	36	13	53	34	19	34	28	17
	2	29	36	34	37	39	30	42	50	23
	3 - 4	3	28	53	10	27	51	24	22	60
PCR PAdV	1	68	26	1						
	2	29	47	13						
	3 - 4	3	27	86						
ATP	1	25	56	38	55	52	41			
	2	25	22	17	19	21	20			
	3	50	22	45	26	27	39			

¹Abréviations : PAdV : adénovirus porcin, BC : boîte contact

3. DISCUSSION

3.1. Niveau de contamination des différents sites prélevés

Les résultats par site de prélèvement permettent de classer les sites en trois groupes de niveau de contamination :

- sites propres : paroi extérieure du camion (car moins de salissures organiques avant le nettoyage) et sol (car salissures moins anciennes, peu de biofilm, sites mieux et

2.3. Calcul d'une note globale par camion

La note globale par camion et par méthode est calculée en faisant la moyenne des notes de chaque site (à partir de la mise en classe précédente et avec regroupement des notes 3 et 4 pour les méthodes notées de 1 à 4). Les moyennes des notes globales pour les deux PCR sont identiques, de même que celles pour la note protéine et la note visuelle. Celles de l'ATP et de la boîte contact sont inférieures (Tableau 5).

A l'échelle d'un camion les différences peuvent être assez marquées entre les méthodes (données non présentées). Le calcul des coefficients de corrélation à partir des notes globales par camion montre que très peu de corrélations entre les méthodes sont significatives. La PCR PAdV est corrélée avec la PCR Clostridium, la note protéine, la note visuelle et la boîte contact (r de 0,40 à 0,58). L'ATP est corrélée avec la note protéine et la note visuelle (r de 0,45 et 0,52).

Tableau 5 – Moyenne des notes globales de chaque méthode de contrôle par camion

Méthodes	n	Moyenne
ATP, pg	27	1,8
PCR PAdV ¹ , Ct	30	2,2
PCR Clostridium, Ct	30	2,2
BC	30	1,9
Note visuelle	30	2,0
Note biofilm	26	2,3
Note protéine	30	2,0

¹Abréviations : PAdV : adénovirus porcin, BC : boîte contact

systématiquement lavés, surface plane et horizontale où le désinfectant persiste plus longtemps) ;

- sites intermédiaires : barrières de séparation et rampe de chargement (salissures moins anciennes, peu de biofilm, sites mieux et systématiquement lavés, surface plane et horizontale où le désinfectant persiste plus longtemps pour les rampes) ;

- sites sales : paroi latérale et plafond (salissures plus anciennes, plus de biofilm, sites moins accessibles, moins bien et moins systématiquement lavés, surfaces verticales où le désinfectant persiste peu).

3.2. Relation entre les méthodes de contrôle

La comparaison de ces différentes méthodes pourrait sembler surprenante puisqu'elles ne mesurent pas les mêmes phénomènes biologiques : persistance de matière organique (note visuelle et résidus de protéines), présence de biofilm, charge bactériologique ou présence de génome viral (ATP, boîte contact et PCR). Cependant, au cours d'un protocole de nettoyage-désinfection, les phases de nettoyage et de désinfection sont très liées : un bon nettoyage étant une condition indispensable à une désinfection efficace. De plus, en l'absence de méthode de référence pour évaluer l'efficacité vis-à-vis des bactéries et des virus, une procédure de nettoyage-désinfection ne peut être jugée satisfaisante que si la propreté visuelle est obtenue et que la charge microbienne est en deçà de seuils préétablis (Anses, 2017).

Une part importante des différences constatées entre ces méthodes réside sans aucun doute dans le fait qu'elles ne mesurent pas la même chose. Mais d'autres facteurs peuvent expliquer les écarts observés entre ces méthodes :

- Les surfaces de prélèvement différentes (de 20 cm² à 1 250 cm²).
- Les techniques de prélèvement qui ne récupèrent pas de manière équivalente tous les micro-organismes et/ou les souillures présentes en particulier sur les surfaces avec un encrassement ancien et/ou très sèches (plafond, paroi latérale).
- Le protocole de l'étude obligeant à faire les différents prélèvements sur des surfaces juxtaposées : les surfaces, même côté à côté, n'ont pas forcément le même niveau de contamination.
- La présence de petites souillures invisibles à l'œil nu pour la notation visuelle.
- L'efficacité de la désinfection : des surfaces visuellement propres mais mal désinfectées ou à l'inverse, sales mais avec initialement peu de charge microbienne et un désinfectant partiellement efficace en présence de matière organique.
- L'humidité ou l'eau résiduelle au moment du prélèvement. Ainsi, en boîte contact, le sol et la rampe de chargement sont les sites les plus contaminés contrairement aux autres méthodes. Lors des prélèvements de ces sites, beaucoup d'eau persistait ce qui favorise le « décollage » des bactéries par la gélose contact et l'inoculum s'étale sur la surface d'où des colonies fusionnées et indénombrables.
- L'ATP et la PCR peuvent révéler la présence d'ATP ou de matériel génétique de micro-organismes morts : la désinfection a été efficace mais ces méthodes considèrent que ce n'est pas le cas.

Nous n'avons pas obtenu de corrélation significative entre la boîte contact et la notation visuelle contrairement à des résultats précédents en élevage de porcs (Corrégé *et al.*, 2003). De même, le coefficient de corrélation entre l'ATP et la boîte contact est inférieur à celui précédemment obtenu en élevage ($r=0,52$) avec un autre test de mesure de l'ATP. Il est néanmoins plus proche de celui d'une étude précédente ($r=0,17$) sur les camions de porcs toujours avec un autre test de mesure de l'ATP (Corrégé et Rugraff, 1998).

3.3. Avantages et inconvénients des différentes méthodes

Les notes visuelles, biofilm et protéine ne caractérisent que le nettoyage alors que les autres caractérisent le nettoyage et la désinfection. Seule la PCR PAdV permet une recherche de virus.

Concernant la technique de prélèvement, la méthode des boîtes contact est facile à standardiser et à réaliser sauf sur des surfaces non planes. L'ATP et la note protéine nécessitent une bonne maîtrise de la technique de l'écouvillonnage pour s'affranchir des effets opérateurs. Pour l'ATP, les préparations de solutions sont un peu fastidieuses. Pour les chiffonnettes, (PCR et note visuelle), la standardisation de la surface de prélèvement peut être difficile en l'absence d'étau guide et la force de frottement peut varier selon les opérateurs. La réalisation de la méthode de contrôle du biofilm est assez fastidieuse, il n'est pas possible de l'utiliser sur tous les types de surface et la notation est difficile et varie selon la luminosité.

Pour toutes les méthodes, le prélèvement peut être plus problématique si les surfaces à prélever sont très sèches et avec de l'encrassement ancien : la force de frottement peut fortement influencer la quantité de contaminants « décrochés ».

Quatre méthodes donnent un résultat quasi instantané sans recours au laboratoire d'analyse : ATP, note biofilm, note visuelle et note protéine. La boîte contact et les PCR nécessitent le recours au laboratoire d'analyse et un délai de 24 heures minimum pour obtenir le résultat.

La méthode d'évaluation visuelle présente l'inconvénient d'être plus subjective et opérateur dépendant malgré la grille visuelle de notation fournie. C'est néanmoins la seule qui permet de bien visualiser à l'œil nu la saleté persistante.

L'ATP nécessite l'achat d'un appareil pour la lecture des prélèvements et l'acquisition de référence pour interpréter les résultats avec chaque type d'appareil.

Le coût des méthodes (hors temps de prélèvement) varie de manière importante : 0 € (note visuelle), moins de 5 € (note protéine), environ 10 € (boîte contact et ATP), plus de 25 € (PCR).

3.4. Choix des méthodes de contrôle

La méthode de mesure du biofilm ne présente pas de corrélation avec les autres méthodes et ne semble pas adaptée pour des contrôles de la propreté des camions d'autant plus qu'elle n'est pas utilisable sur tous les sites.

Les pourcentages de sites notés propres très variables selon les méthodes laissent penser que plusieurs d'entre elles ont une capacité moindre à détecter un nettoyage-désinfection insuffisant. Afin d'orienter le choix d'une méthode, nous proposons de se baser sur les postulats suivants : (i) si l'il y a plus de 50 colonies en boîte contact (note ≥ 2), le site prélevé est insuffisamment nettoyé-désinfecté, (ii) si la note visuelle est de 3 ou de 4, le site est mal nettoyé donc la désinfection ne sera a priori pas efficace, (iii) si l'il y a une note en PCR ≥ 3 le site est mal nettoyé-désinfecté.

La méthode note protéine possède les meilleures corrélations avec les autres méthodes. Les méthodes note protéine et note visuelle génèrent des résultats assez similaires : seul 2 % des sites propres en protéine sont sales en visuel. De 12 à 29 % des sites classés propres ne le sont pas en PCR *Clostridium* ou en PCR PAdV ou en boîte contact. Les méthodes note protéine et note visuelle permettent un premier niveau d'évaluation de la qualité du protocole appliquée. Le choix entre l'une ou l'autre de ces méthodes repose sur les critères de coût et du caractère plus ou moins subjectif de la notation.

La boîte contact et l'ATP ne semblent toujours pas suffisantes pour bien apprécier l'efficacité du protocole : respectivement 33 % et 27 % des sites classés propres ne le sont pas en PCR

Clostridium ; 33 % et 36 % des sites classés propres ne le sont pas en PCR PAdV ; 38 % et 31 % des sites classés propres sont sales en note visuelle. De plus, les corrélations avec les autres méthodes sont non significatives ou avec des coefficients très bas.

Les PCR *Clostridium* et PAdV sont assez bien corrélées entre elles. Le fait qu'elles soient réalisées à partir du même prélèvement permet de s'affranchir de biais cités précédemment (cf. 3.2). La PCR PAdV a des meilleures corrélations avec les autres méthodes que la PCR *Clostridium*. C'est encore plus le cas pour les corrélations des notes globales par camion. Avec la PCR *Clostridium*, 13 % des sites propres et 40 % des sites moyens sont sales en boîte contact, 6 % des sites propres et 31 % des sites moyens sont sales en visuel. Cette PCR ne semble donc pas apporter plus d'information que ces deux méthodes pour un coût et/ou un délai de réponse supérieurs.

Dix pourcents des sites classés propres et 35 % des sites classés moyens en PCR PAdV sont sales en boîte contact. 16 % des sites propres et 29 % des sites moyens en PCR PAdV sont sales en visuel. 23 % des sites contrôlés possèdent un résultat non détectable. Cette méthode présente cependant l'avantage de fournir une information sur la qualité de la désinfection vis-à-vis d'un virus omniprésent avant réalisation du protocole de nettoyage-désinfection (Le Dimna *et al.*, 2025).

La grande variabilité de contamination entre les différents sites prélevés sur un camion rend nécessaire de réaliser plusieurs prélèvements pour obtenir une bonne représentation de la contamination résiduelle du camion. De plus, la mise en évidence de trois groupes de sites en fonction de leur niveau de contamination nous amène à préconiser le prélèvement d'au moins cinq sites par véhicule pour une phase de qualification de protocole : rampe de chargement, sol, paroi latérale côté

intérieur, barrière de séparation, plafond. En contrôle de routine il peut être recommandé d'associer au contrôle visuel un contrôle microbiologique sur 2 sites de prélèvements.

CONCLUSION

Aucune des différentes méthodes de contrôle de routine de l'efficacité du nettoyage-désinfection des camions disponibles n'a donné entière satisfaction. Ces résultats corroborent ceux de la saisine Anses 2017-SA-0222 relative aux procédures de contrôle de l'efficacité des opérations de nettoyage et désinfection des moyens de transport d'oiseaux vivants vis-à-vis du risque d'influenza aviaire (Anses, 2017). Le contrôle des opérations de nettoyage-désinfection doit donc être de trois niveaux : contrôle du protocole de nettoyage-désinfection mis en œuvre, contrôle visuel de la propreté par la méthode d'évaluation visuelle de l'Irip ou par détection des résidus protéiques. Lorsque le contrôle visuel est satisfaisant, un contrôle microbiologique peut s'avérer pertinent. La boîte contact reste un indicateur simple et peu onéreux de contamination bactériologique mais néanmoins perfectible. La PCR PAdV qui permet d'évaluer l'efficacité vis-à-vis des virus semble intéressante dans un contexte de risque de Peste Porcine Africaine et/ou pour valider des procédures de nettoyage-désinfection alternatives à celles fixés par la réglementation (Arrêté ministériel du 29 avril 2019) ou dans des démarches HACCP.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la région Bretagne pour le financement de cette étude ainsi les entreprises (Cooperl, Socopa, Eureden) qui ont participé à l'étude.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anses, saisine n° « 2017-SA-0222 », 2017. Avis relatif à « la demande d'appui scientifique et technique sur les procédures de contrôle de l'efficacité des opérations de nettoyage et désinfection des moyens de transport d'oiseaux vivants vis-à-vis du risque d'influenza aviaire, 51 p.
- Arrêté du 29 avril 2019 relatif aux mesures de prévention de la propagation des dangers sanitaires réglementés via le transport par véhicules routiers de suidés vivants, 5p.
- BHVSI-SA, Bulletins hebdomadaires de veille sanitaire internationale, 2024. Plateforme ESA, <https://www.plateforme-esa.fr/fr/bulletins-hebdomadiers-de-veille-sanitaire-internationale->.
- Corrégé I. et Rugraff Y., 1998. Mise au point d'une méthode de contrôle de l'efficacité du nettoyage-désinfection des véhicules de transport des porcs vivants. TechniPorc, 21, 29-33.
- 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.
- Corrégé I., Lanneshoa M., Hémonic A., 2010. Mise au point d'une méthode de contrôle visuelle semi-quantitative du nettoyage en élevage porcin. Congrès annuel de l'AFMVP, 91-92.
- Corrégé I., 2016. Transport de porcs vivants : la biosécurité est essentielle. Tech Porc, 27, 32-35.
- Fraval P., Cariolet R., Queguiner M., Salvat G., 2003. Individual effect of the steps preceding slaughtering on *Salmonella* contamination of pigs. Proc. 5th International Symposium on the epidemiology and control of foodborne pathogens in pork, Heraklion, Greece, 61-64.
- Le Dimna M., Corrégé I., Leroux A., Richard R., Blanchard Y., Bourry O., 2025. Identification de biomarqueurs de contamination des camions de transport de porcs. Journées Rech. Porcine, 57, 335-336.
- Lowe J., Gauger P., Harmon K., Zhang J., Connor J., Yeske P., Loula T., Levis I., Dufresne L., Main R., 2014. Role of Transportation in Spread of Porcine Epidemic Diarrhea Virus Infection, United States. Emerg. Infect. Dis., 20, 872-874.
- Rose N., 2018. La DEP avec le recul après les cas de 2014 et 2017 que peut-on conclure. GTV Bretagne, 22 mars 2018, 72-76.
- Rossel, R., Le Roux, A., Minvielle B., 2002. Contamination en Salmonelles des camions de transport de porcs charcutiers et des porcheries d'attente. TechniPorc 25, 27-31.
- Weber L. et Meemken D., 2018. Hygienic measures during animal transport to abattoirs - a status quo analysis of the current cleaning and disinfection of animal transporters in Germany. Porcine Health Management 4 : 1.