

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 6 janvier 2017

## **Avis** **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

relatif à « l'amélioration des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture, notamment en matière de dépistage »

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*  
*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*  
*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*  
*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*  
*Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

L'Anses a été saisie le 13 avril 2015 par la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) pour la réalisation de l'expertise suivante : amélioration des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture, notamment en matière de dépistage.

### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

#### **1.1. Contexte de la demande**

Le règlement (CE) N°2160/2003 du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 impose aux Etats membres la mise en place d'un plan de maîtrise de certains sérotypes de salmonelles, assorti de mesures de gestion, dans la chaîne alimentaire. Dans le cas des filières avicoles en France, des plans de lutte sous formes d'arrêtés ont donc été successivement mis en place depuis 2008 aux étages sélection, reproduction et production pour les productions d'œufs de consommation et de viande de poulet et de dinde.

Cette saisine s'inscrit dans une optique de révision des arrêtés de lutte en cours et fait suite à divers événements observés durant la période 2012-2014, notamment la stagnation ou la tendance à l'augmentation de l'incidence des sérotypes réglementés observées ces dernières années, notable en filière chair aux étages multiplication et production (volailles d'engraissement, essentiellement les élevages de poulets de chair). Elle fait également suite à un audit de l'Office alimentaire et vétérinaire (DG SANCO 2013-6689), relatif aux programmes français de lutte contre les salmonelles aviaires.

La demande de la DGAL comportait deux séries de questions :

- La première série de questions portait sur la diminution des taux de confirmation dans les différentes filières lors des opérations de contrôle consécutives aux

suspensions de salmonellose (isolement de salmonelles appartenant aux sérotypes pris en considération dans la réglementation) établies dans les élevages à la suite d'un dépistage positif, et le signalement d'« absence de pousse » par les laboratoires. Traitées dans le cadre d'un Appui Scientifique et Technique (AST) par le laboratoire Anses de Ploufragan-Plouzané (LNR *Salmonella* et salmonelloses aviaires et unité d'Epidémiologie et Bien-être en Aviculture et Cuniculture), ces questions ont fait l'objet d'un premier rapport finalisé en juin 2016.

- La seconde série de questions portait sur l'efficacité des plans de lutte officiels. La réponse à ces questions a été traitée dans le cadre d'une expertise collective par les experts du CES SABA.

## 1.2. Questions posées par la saisine

La première partie de la saisine porte sur 3 questions relatives à la diminution des taux de confirmation dans les différentes filières :

- × Quelles sont les origines les plus probables de la baisse des taux de confirmation (nombre APMS<sup>1</sup>/nombre d'APDI<sup>2</sup>) constatée dans les différentes filières soumises aux plans de lutte officiels ? Existe-t-il des causes déterminantes ? Quelles sont les interactions entre les différentes causes de non confirmation identifiées ?

Le demandeur propose de traiter ce point en deux étapes :

- De caractériser le phénomène de baisse pour la période précisée de 2012 à 2014 en France pour les filières *Gallus gallus* œuf de consommation, *Gallus gallus* viande et *Meleagris gallopavo* viande, à l'exclusion de l'étape production de ces 2 dernières filières où la confirmation d'infection n'est pas une pratique systématique. Cette caractérisation comprend *a minima* l'analyse des données de suspicion et de confirmation extraites de SIGAL en 2014.
  - Dans un second temps, si l'analyse des données disponibles ne permet pas de conclure sur les origines de la baisse du taux de confirmation, proposer et mettre en œuvre un protocole de prélèvement et d'analyse pour les prélèvements de confirmation durant une période suffisante, à définir. Compte tenu du délai de réponse imparti pour la 1<sup>ère</sup> partie de l'AST, il a été précisé au demandeur dès la réception de la saisine qu'une étude complémentaire ne pourrait pas être mise en œuvre dans le délai imparti pour répondre.
- × Quels sont les effets des agents biologiques ou des produits interférant sur le dépistage des salmonelles, effectué à l'élevage ou en dehors ? Comment les mettre en évidence ?
  - × Quelles sont les conditions justifiant des prélèvements de confirmation après une première positivité ?

La seconde partie de la saisine porte sur quatre questions relatives à l'efficacité des plans de lutte officiels. Ces questions sont les suivantes :

- × Dépistage à partir des eaux de lavage : en fonction de l'intérêt et des caractéristiques de cette méthode, quelles seraient les indications et les modalités de sa mise en œuvre ?
- × Échanges d'œufs à couver : le dépistage des troupeaux reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus* prévu par la réglementation française apporte-t-il les

<sup>1</sup> Arrêté préfectoral de mise sous surveillance

<sup>2</sup> Arrêté préfectoral portant déclaration d'infection

garanties sanitaires exigées par le règlement 200/2010<sup>3</sup> en cas d'échanges d'œufs à couvrir au sein de l'Union européenne ?

- × Dépistage des troupeaux reproducteurs à l'éclosion : les modalités et conditions de réalisation du dépistage à l'éclosion des troupeaux reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus* sont-elles satisfaisantes ? Quels aménagements permettraient d'optimiser le dépistage à l'éclosion ?
- × Maintien de l'autorisation de vacciner à l'étape multiplication de la filière chair : la vaccination à l'étape de multiplication en filière chair est-elle compatible avec l'assainissement durable des bâtiments contaminés ?

Trois questions (questions 2, 3 et 4) concernent exclusivement les troupeaux reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus* (poules pondeuses et poulets de chair). La question 1 peut s'appliquer également aux troupeaux de l'espèce *Meleagris gallopavo* (dindes).

## 2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

Comme expliqué précédemment, la réponse à la première partie de la saisine a été traitée par l'équipe du Laboratoire de Ploufragan-Plouzané de l'Anses et rendue sous forme d'un rapport d'AST de l'Anses « Etudes épidémiologiques et bibliographiques » relatif aux questions liées à la diminution des taux de confirmation dans les différentes filières émis en juin 2016. L'intégralité de ce rapport d'AST est disponible en Annexe 2.

La réponse à la seconde partie des questions relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « Santé et bien-être des animaux » (SABA). L'Anses a confié l'expertise à quatre rapporteurs, dont deux experts du CES SABA. Les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques le 8 novembre 2016. Ils ont été adoptés par le CES SABA réuni le 6 décembre 2016.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

Cette expertise s'est appuyée sur les éléments suivants :

- la lettre de saisine ;
- le règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur le contrôle des salmonelles et d'autres agents zoonotiques spécifiques présents dans la chaîne alimentaire ;
- le règlement (UE) n° 200/2010 de la Commission du 10 mars 2010 portant application du règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne la fixation de l'objectif de l'Union en matière de réduction de la prévalence de sérotypes de salmonelles dans les cheptels d'animaux adultes de reproduction de l'espèce *Gallus gallus* ;
- le règlement (CE) n° 1003/2005 de la commission du 30 juin 2005 portant application du règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil en ce qui

<sup>3</sup> règlement (UE) n° 200/2010 de la Commission du 10 mars 2010 portant application du règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne la fixation de l'objectif de l'Union en matière de réduction de la prévalence de sérotypes de salmonelles dans les cheptels d'animaux adultes de reproduction de l'espèce *Gallus gallus*.

concerne la fixation d'un objectif communautaire de réduction de la prévalence de certains sérotypes de salmonelles dans les cheptels reproducteurs de *Gallus gallus* et portant modification du règlement (CE) n° 2160/2003 ;

- le règlement (CE) n°1237/2007 de la commission du 23 octobre 2007 modifiant le règlement (CE) no 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil et la décision 2006/696/CE en ce qui concerne la mise sur le marché d'œufs provenant de cheptels de poules pondeuses infectés par les salmonelles ;
- le règlement (UE) n°517/2011 de la commission du 25 mai 2011 portant application du règlement (CE) n°2160/2003 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne la fixation de l'objectif de l'Union en matière de réduction de la prévalence de certains sérotypes de salmonelles chez les poules pondeuses de l'espèce *Gallus gallus* et portant modification du règlement (CE) n°2160/2003 et du règlement (UE) n°200/2010 de la Commission ;
- l'arrêté du 26 février 2008 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella* dans les troupeaux de reproduction de l'espèce *Gallus gallus* en filière chair et fixant les modalités de déclaration des salmonelloses aviaires, visées à l'article D. 223-1 du code rural, dans ces mêmes troupeaux ;
- l'arrêté du 26 février 2008 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella* dans les troupeaux de l'espèce *Gallus gallus* en filière ponte d'œufs de consommation et fixant les modalités de déclaration des salmonelloses aviaires, visées à l'article D. 223-1 du code rural, dans ces mêmes troupeaux ;
- la note de service DGAL/SDSSA/N2008-8065 du 20 mars 2008 relative à la publication le 5 mars 2008 des arrêtés ministériels du 26 février 2008 relatifs à la lutte vis-à-vis des salmonelles dans les troupeaux *Gallus gallus* filières ponte et chair et à la participation financière de l'Etat ;
- la note de service DGAL/SDSSA/N2004-8188 du 26 juillet 2004 relative au protocole de gestion et de communication à l'attention du public autour du risque alimentaire lié à *Salmonella* spp dans des denrées alimentaires.
- diverses publications scientifiques (cf. bibliographie).

Elle s'est également appuyée sur l'audition :

- d'un vétérinaire consultant pour les coopératives avicoles auditionné le 02 septembre 2016 ;
- de M. Gérard Lévêque (directeur technique) et Mme Elise Chasseignaux (responsable des laboratoires vétérinaires du groupe), travaillant au sein de la société Hendrix-Genetics (1 rue Jean Rostand, 22440 Ploufragan), auditionnés le 12 septembre 2016 ;
- de M. Eric Bonjour, directeur technique et vétérinaire chez Hubbard-Breeders (Mauguerand, Le Foeil, 22800 Quintin) et président de la commission sanitaire et export du Syndicat National des Accoueurs (SNA), auditionné le 26 octobre 2016.

### 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN-PLOUZANE (I) ET DU CES SABA (II)

#### I. Questions liées à la diminution des taux de confirmation dans les différentes filières

Cette partie est une synthèse du travail accompli lors de la réalisation de l'AST. Le rapport d'AST complet est disponible en Annexe 2.

##### **Analyse et réponse aux questions posées**

Les plans de lutte officiels contre les salmonelloses dans les troupeaux avicoles organisent le dépistage des troupeaux infectés par les sérotypes de salmonelles réglementées sous forme de contrôles bactériologiques réalisés périodiquement dans les élevages. Un premier dépistage positif est confirmé lors d'une ou deux séries de prélèvements réalisés par la DDecPP à l'élevage. Sur la base des résultats de confirmation obtenus entre 2012 et 2014 dans les troupeaux de volailles soumis à la surveillance, il est difficile de qualifier l'évolution du taux de confirmation des suspicions d'infection, sauf dans les troupeaux de poudeuses où une baisse est confirmée statistiquement. Néanmoins l'absence de confirmation d'infection demeure régulière dans les troupeaux de volailles suspects.

##### **Question 1 : « Origine de la baisse du taux de confirmation »**

Le résultat d'une confirmation d'infection salmonellique dépend de la situation épidémiologique de l'élevage et de la réalisation de l'acte de confirmation en lui-même. La confirmation est pratiquée dans deux situations épidémiologiques distinctes : à la suite soit d'un dépistage positif sur le troupeau suspect, soit de l'identification d'un lien épidémiologique entre ce troupeau et un cas avéré d'infection salmonellique.

La confirmation d'une suspicion sur lien épidémiologique relève plus d'un acte de dépistage complémentaire ciblé que d'une réelle confirmation d'infection. Elle apporte des éléments épidémiologiques indispensables à l'identification de l'origine d'un foyer et à la gestion opérationnelle du cas index d'infection.

L'absence de confirmation d'une infection salmonellique suite à un dépistage positif est un phénomène fréquent dans toutes les filières et à tous les étages. Au vu des données épidémiologiques collectées en 2014 une suspicion est d'autant plus fréquemment confirmée qu'un nombre important de prélèvements de dépistage est positif, témoignant d'un niveau de contamination élevé au sein du troupeau.

##### **Question 2 : « Effets des agents biologiques ou des agents interférant sur le dépistage »**

Dans le cas d'une confirmation suite à un dépistage positif, le ré-isolement de la bactérie peut être rendu difficile par une faible prévalence de l'excrétion salmonellique dans les troupeaux infectés (notamment ceux vaccinés), comme décrite dans des observations épidémiologiques de terrain. L'utilisation d'agents potentiellement interférant avec le dépistage ne peut être non plus exclue : des éléments existent pour considérer que les antibiotiques, les désinfectants, les traitements acidifiant, alcalinisant et asséchant des litières et les flores de barrières orales interféreraient avec la confirmation d'infection. Bien qu'il soit difficile de prouver l'utilisation de ces agents, la survenue d'absence de pousse sur prélèvement de confirmation est un résultat anormal qui est un indicateur indirect de l'utilisation volontaire ou involontaire d'un agent interférant. Elle justifierait *a minima* la réalisation de nouveaux prélèvements de confirmation. Une harmonisation et une systématisation de la déclaration des absences de pousse sur la totalité du réseau de laboratoires agréés et reconnus seraient nécessaires pour assurer le suivi épidémiologique de cet indicateur.

Les plans minimaux d'échantillonnage prévus dans les arrêtés de lutte permettent, selon l'état actuel des connaissances, d'assurer une sensibilité élevée du protocole de confirmation. Un strict respect de ces plans et une prise en compte attentive des informations épidémiologiques disponibles, pour adapter le protocole à des situations rendant le dépistage plus compliqué, amélioreraient la sensibilité de la confirmation. De plus, l'exploitation des données commémoratives des prélèvements de dépistage et de confirmation permettrait de mieux documenter la situation épidémiologique des troupeaux de volailles vis-à-vis des salmonelloses réglementées, de poursuivre l'analyse des facteurs pouvant influencer le taux de confirmation d'infection et de contribuer à l'évaluation du système de surveillance actuel. Ce travail d'exploitation des commémoratifs est nécessaire afin de juger de l'opportunité de proposer et de tester de nouveaux protocoles de confirmation de l'infection.

**Question 3 : « Conditions justifiant des prélèvements de confirmation après une première positivité »**

En réponse à la demande concernant les facteurs justifiant le recours à la confirmation d'un dépistage positif, il a été estimé que plusieurs critères épidémiologiques pourraient être pris en compte : i. les historiques salmonelliques du troupeau et du bâtiment hébergeant le troupeau, ii. le nombre de prélèvements positifs lors du dépistage à l'origine de la suspicion, afin d'assurer une gestion du risque proportionnée à l'intensité de la suspicion, iii. le respect de la charte<sup>4</sup> sanitaire pour le troupeau suspect. La mise en œuvre de prélèvements de confirmation devrait s'accompagner d'un engagement du détenteur des animaux à n'utiliser aucun produit ou moyen susceptibles d'altérer la sensibilité du dépistage. Une meilleure traçabilité de l'usage de ces produits pourrait être obtenue par une inscription obligatoire de leur utilisation dans le registre d'élevage.

**Recommandations**

- *Recommandations relatives aux conditions épidémiologiques à considérer pour justifier une confirmation d'infection*

Compte-tenu du risque d'émergence du danger sanitaire de 1<sup>ère</sup> catégorie *S. Kentucky* résistant à la ciprofloxacine, actuellement absent de France, la prise de mesures de gestion de l'infection immédiates lors de l'isolement de ce sérotype au cours d'un dépistage obligatoire ou officiel est recommandée.

La prise d'un APMS sur un lien épidémiologique permet la réalisation d'un dépistage complémentaire ciblé sur le troupeau en lien avec un foyer et ainsi l'obtention d'éléments épidémiologiques utiles à la mise en œuvre des mesures de gestion du cas index d'infection. Il est recommandé que ces prélèvements ne soient plus considérés comme des prélèvements de confirmation d'infection mais des prélèvements complémentaires de dépistage ciblé.

Les historiques salmonelliques du troupeau (suspicion antérieure non confirmée, absence de résultat de dépistage valide) et du bâtiment hébergeant le troupeau pourraient être des éléments épidémiologiques à considérer dans la décision du recours à la confirmation.

Le nombre de prélèvements positifs lors du dépistage à l'origine de la suspicion est un élément épidémiologique qui pourrait être considéré dans la décision du recours à la confirmation d'infection, afin d'assurer une gestion du risque proportionnée à l'intensité de la suspicion.

---

<sup>4</sup> Arrêté du 26 février 2008 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella* dans les troupeaux de l'espèce *Gallus gallus* en filière ponte d'œufs de consommation, visées à l'article D. 223-1 du code rural, dans ces mêmes troupeaux et Arrêté du 26 février 2008 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella* dans les troupeaux de reproduction de l'espèce *Gallus gallus* en filière chair et fixant les modalités de déclaration des salmonelloses aviaires, visées à l'article D. 223-1 du code rural, dans ces mêmes troupeaux, Chapitre premier « Charte sanitaire »

Le respect de la charte sanitaire pour le troupeau suspect pourrait être un élément épidémiologique à considérer dans la décision du recours à la confirmation, étant donné que les barrières sanitaires que la charte impose aident à prévenir l'introduction et la dissémination des salmonelles.

▪ *Recommandations relatives à la réalisation des prélèvements de confirmation*

La mise en œuvre de prélèvements de confirmation devrait s'accompagner d'un engagement du détenteur des animaux à n'utiliser aucun produit ou moyen susceptibles d'altérer la sensibilité du plan d'échantillonnage. Parmi les produits susceptibles d'interférer avec le dépistage des salmonelles, il faudrait *a minima* considérer les flores de barrières orales, les traitements antibiotiques, les traitements acidifiant, alcalinisant ou asséchant des litières et les produits de désinfection, pour lesquels ils existent des éléments permettant de suspecter un impact sur la sensibilité de la confirmation et du dépistage en général.

Le bon respect du plan minimal de prélèvement pour la confirmation, prévu dans les arrêtés de lutte, constitue un élément déterminant pour la sensibilité de détection et devrait donc être amélioré.

La réalisation des prélèvements de confirmation devrait s'accompagner systématiquement d'une consultation préalable du registre d'élevage et, si elle existe, de la fiche de lot, pour récolter les informations sur les pratiques ou conditions d'élevage pouvant influencer la sensibilité du dépistage. Un renforcement du plan d'échantillonnage ou un report des prélèvements pourraient alors être décidés afin d'assurer les meilleures conditions possibles pour la confirmation.

Le recours à des agents neutralisants des désinfectants devrait être généralisé lors des prélèvements des échantillons de confirmation. Incorporés dans les milieux de prélèvement ou/et au cours de l'analyse au laboratoire, l'absence de spécificité de ces neutralisants ne permet pas de conclure à la seule présence de désinfectants mais plus largement à la présence de substances chimiques inhibitrices des microorganismes.

De nombreux produits couramment utilisés en élevage pourraient interférer avec la confirmation des infections salmonelliques. Une information spécifique sur cet effet potentiellement interférant devrait donc être ajoutée dans la fiche technique de ces produits.

L'utilisation de ces produits biocides devrait être reportée dans le registre d'élevage afin d'augmenter la transparence sur leur utilisation et faciliter une mise en œuvre efficace de la confirmation, ou du dépistage salmonellique en général.

▪ *Recommandations relatives à l'amélioration de la surveillance épidémiologique*

Les actes de dépistage officiels et de confirmation incluent le renseignement de données épidémiologiques sur le troupeau et sur les conditions de réalisation des prélèvements, auquel une attention particulière devrait être apportée. Une exploitation plus avancée de ces informations, comprenant leur vérification et leur consolidation en cas de manque, permettrait de mieux documenter la situation épidémiologique des troupeaux de volailles vis-à-vis des salmonelloses réglementées, de poursuivre l'analyse des facteurs pouvant influencer le taux de confirmation d'infection et de contribuer à l'évaluation du système de surveillance actuel.

Les absences de pousse sont un facteur important à considérer pour la validation des résultats du dépistage. Une harmonisation et une systématisation de la déclaration des absences de pousse sur la totalité du réseau de laboratoires agréés et reconnus est nécessaire pour assurer le suivi épidémiologique de cet indicateur.

## II. Autres questions liées à l'efficacité des plans de lutte officiels

**Analyse et réponse à la Question 1 : « Dépistage à partir des eaux de lavage : en fonction de l'intérêt et des caractéristiques de cette méthode, quelles seraient les indications et les modalités de sa mise en œuvre ? »**

### Analyse de la question posée

Le règlement (CE) n°2160/2003 du Parlement européen et du conseil du 17 novembre 2003 impose aux états membres la mise en place d'un plan de maîtrise des sérotypes majeurs de *Salmonella*. Les plans de lutte officiels organisent le dépistage et l'élimination des troupeaux contaminés par les salmonelles de sérotypes réglementés. Le dépistage repose sur des prélèvements obligatoires réalisés (à l'initiative de l'exploitant) selon une périodicité définie par les arrêtés ainsi que sur des prélèvements officiels (DDecPP) réalisés selon un plan de sondage défini dans le plan de lutte national.

En cas de positivité, la possibilité de réaliser des prélèvements de confirmation est donnée par les règlements européens n°2160/2003, 1237/2007, 200/2010 et 517/2011. Les analyses de confirmation ont pour but d'éliminer les résultats initiaux faussement positifs.

La diminution des taux de confirmation dans les différentes filières lors des opérations de contrôles consécutives aux suspicions de salmonelloses, incite à recourir à de nouvelles méthodes de dépistage et de confirmation des cas établis dans les élevages à la suite d'un dépistage positif. Ces nouvelles méthodes permettraient également de réduire l'utilisation et l'impact de pratiques induisant des absences de pousses.

Une pratique proposée par la DGAL serait de dépister la présence des salmonelles en réalisant des prélèvements à partir des eaux de lavages dans les élevages cibles.

### Argumentation et réponse à la question posée

La diminution des taux de confirmation dans les différentes filières lors des opérations de contrôles consécutives aux suspicions de salmonelloses et le signalement d'absence de poussa par les laboratoires est problématique. L'appui scientifique et technique, réalisé par le laboratoire de l'Anses Ploufragan (LNR *Salmonella* et salmonelloses aviaires et Unité d'Epidémiologie et Bien-être en Aviculture et Cuniculture), a permis de mettre en évidence, dans son rapport d'études épidémiologiques et bibliographiques, plusieurs facteurs influençant la confirmation d'infection (vaccination, prévalence, sérotype, etc.).

L'analyse des bilans annuels relatifs aux plans de lutte officiels et les évolutions constatées ces dernières années, montrent que certaines pratiques, sont susceptibles de remettre en cause l'efficacité de ces plans. C'est pourquoi la DGAL s'intéresse au dépistage des salmonelles à partir des eaux de lavage. Le lavage est une étape importante du programme sanitaire, elle permet de réduire jusqu'à 85% la charge microbienne et est essentielle avant l'application d'un désinfectant (Anonyme, 2010). Durant cette étape du processus de nettoyage désinfection, l'eau de lavage balaye toutes les parois des bâtiments permettant ainsi de décrocher les poussières présentes ainsi que les microorganismes qui y sont associés. De ce fait ces microorganismes se retrouvent dans les eaux de lavage. Le dépistage à partir des eaux de lavage aurait lieu avant l'étape de désinfection pour ne pas être confronté à des problèmes d'absence de poussa au laboratoire dus à la présence de désinfectants. Ce prélèvement supplémentaire est déjà pratiqué dans certains élevages, à l'initiative des professionnels, dans un but de prévention afin de contrôler le statut sanitaire des bâtiments et, le cas échéant, renforcer la désinfection et la surveillance.

Le protocole opératoire dont les experts ont été informés lors des auditions consiste à réaliser après lavage un prélèvement de chiffonnette au niveau de flaques d'eau résiduelles présentes au sol. Ce protocole part du principe qu'en présence de salmonelles dans un élevage, celles-ci seraient disséminées partout au cours de l'étape de lavage et la chiffonnette permettrait leur récupération.

En l'absence, à la connaissance des experts, de données décrites dans la littérature à ce sujet, il n'est pas possible de dire, d'un point de vue scientifique, que ce prélèvement est représentatif de la qualité sanitaire de l'élevage. Les seules études sur les eaux de lavage dans la filière avicole concernent à ce jour principalement les eaux utilisées pour le nettoyage des coquilles d'œufs (Note de service DGAL N2004-8188 du 26 juillet 2004, (Hudson *et al.* 2016)), ou des carcasses animales (Sanchez-Maldonado *et al.* 2016). La détection des salmonelles dans les aliments et l'eau peut se faire par culture bactériologique classique (Soria, Soria, et Bueno 2013) ou au moyen de l'amplification par polymérase en chaîne (PCR), cette dernière méthode présente l'avantage de permettre, même si elle nécessite une phase de pré-enrichissement, une détection rapide de *Salmonella* spp (Thompson *et al.* 2006). Bien que présentant un intérêt évident, les laboratoires ne sont pas en mesure d'utiliser la PCR dans un cadre réglementaire, faute de reconnaissance officielle de cette technique.

Le dépistage à partir des eaux de lavage, tel que décrit par les professionnels le pratiquant, nécessiterait d'être validé préalablement par des études plus précises portant sur les méthodes d'échantillonnage (nature du prélèvement, nombre d'échantillons, différents lieux de prélèvement, etc.) et les techniques d'analyses utilisables à partir de cette matrice. A l'heure actuelle, en l'absence d'étude permettant d'évaluer la sensibilité de la méthode, ce prélèvement n'a de valeur que si son résultat est positif. De plus, les experts soulignent la difficulté pour les agents de la DDecPP de planifier la réalisation de ce type de prélèvement qui doit être effectué après lavage et avant le début des opérations de désinfection, ainsi que les difficultés voire l'impossibilité de réaliser ce type de prélèvement dans certains types de bâtiments (sols en terre battue) ou du fait de certaines pratiques (nettoyage avant l'évacuation des litières).

En conclusion, en l'absence de données scientifiques, les experts ne peuvent pas recommander le dépistage des salmonelles à partir des eaux de lavage sans que les études complémentaires précédemment suggérées soient préalablement menées. Ils soulignent néanmoins l'intérêt potentiel que cette méthode de dépistage pourrait présenter, non pas pour remplacer les contrôles réglementaires (règlement (CE) n°2160/2003), mais en tant qu'outil de contrôle additionnel d'élevages à risque pouvant être par exemple mis en œuvre dans des parquets ayant présenté un contrôle négatif après dépistage positif, ou en cas de problème de non-pousse, et permettant notamment de statuer sur la contamination du bâtiment et de mettre accent sur l'importance de la désinfection.

**Analyse et réponse à la Question 2 : « Échanges d'œufs à couver : le dépistage des troupeaux reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus* prévu par la réglementation française apporte-t-il les garanties sanitaires exigées par le règlement 200/2010 en cas d'échanges d'œufs à couver au sein de l'Union européenne ? »**

Analyse de la question posée

La question posée porte sur la pertinence, en termes de garanties sanitaires, des modalités du dépistage dans les troupeaux de reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus* telles que prescrites par les deux arrêtés de lutte du 26 février 2008 relatifs à la lutte contre les infections à *Salmonella* en filières ponte et chair, par rapport aux mesures exigées par le règlement 200/2010 en cas d'échanges d'œufs à couver au sein de l'Union européenne.

Telle que libellée, la question porte exclusivement sur le dépistage obligatoire dans les troupeaux reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus* dont la production des œufs à couver est destinée, partiellement ou en totalité, à d'autres Etats membres ou à l'exportation. Elle concerne donc à la fois les établissements de sélection et les établissements de multiplication.

Le règlement 200/2010 prévoit dans son annexe que les échantillons destinés à la surveillance de la salmonellose aviaire dans les cheptels de poules domestiques adultes de reproduction comptant au moins 250 têtes, réalisés à l'initiative des exploitants, soient prélevés toutes les deux<sup>5</sup> semaines, à l'endroit choisi par l'autorité compétente parmi les deux possibilités suivantes : dans le couvoir ou dans l'exploitation. Toutefois, il est stipulé au point 2.1.1 b de cette annexe que les échantillons prélevés dans les cheptels reproducteurs qui pondent des œufs à couver destinés aux échanges dans l'Union, doivent l'être dans l'exploitation.

Le dépistage obligatoire en France, tel que prescrit par les deux arrêtés de lutte du 26 février 2008 (dans leurs annexes I.1), est pratiqué à la fois dans l'exploitation et dans le couvoir (Figure 1).

- En exploitation, il est prescrit d'abord dans les troupeaux en période d'élevage, quand les oiseaux ont l'âge d'un jour et de quatre semaines, puis deux semaines avant l'entrée en ponte si les oiseaux restent dans le bâtiment d'élevage ou, dans le cas contraire, deux semaines avant le transfert de bâtiment. Il est prescrit ultérieurement, dans l'exploitation où est détenu le troupeau en période de ponte dans un délai de quatre semaines à compter de l'entrée en ponte, puis à trente-quatre, quarante-deux et cinquante semaines d'âge en filière chair ou à trente-huit et cinquante-quatre semaines d'âge en filière ponte, et dans les huit semaines avant la réforme, et dans le cas de seconde ponte, deux semaines avant et deux semaines après l'entrée en ponte, puis toutes les douze semaines. En dehors des périodes indiquées, les prélèvements en période de ponte sont remplacés par des prélèvements dans les couvoirs où sont livrés les œufs à couver produits pour chaque troupeau de reproducteurs à tester.
- En couvoir, les prélèvements sont effectués toutes les deux semaines, l'échantillonnage devant avoir lieu un jour d'éclosion où des échantillons de tous les troupeaux reproducteurs sont disponibles.

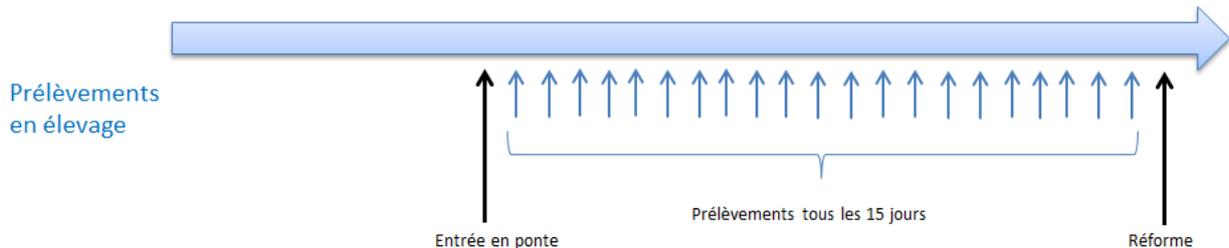
Il est stipulé cependant dans les deux arrêtés susvisés (Annexe I, points 2.4 pour la filière chair ou 1.2.5 pour la filière ponte d'œufs de consommation) que, pour les troupeaux dont la totalité des œufs à couver produits est destinée à d'autres Etats membres ou à l'exportation, des échantillons doivent être prélevés sur le site de l'exploitation toutes les deux semaines à partir de l'entrée en ponte et jusqu'à l'abattage

<sup>5</sup> Le rythme de ces prélèvements peut être porté à 3 semaines si l'objectif de l'Union (le pourcentage maximal de cheptels restant positifs au regard des sérotypes de salmonelles visés doit être réduit à une valeur inférieure ou égale à 1 %) a été atteint pendant au moins deux années calendaires consécutives sur tout le territoire de l'Etat membre.

des animaux (Figure 1). Aucune prescription n'est stipulée en revanche pour les troupeaux dont seulement une partie des œufs à couvrir est destinée aux échanges.

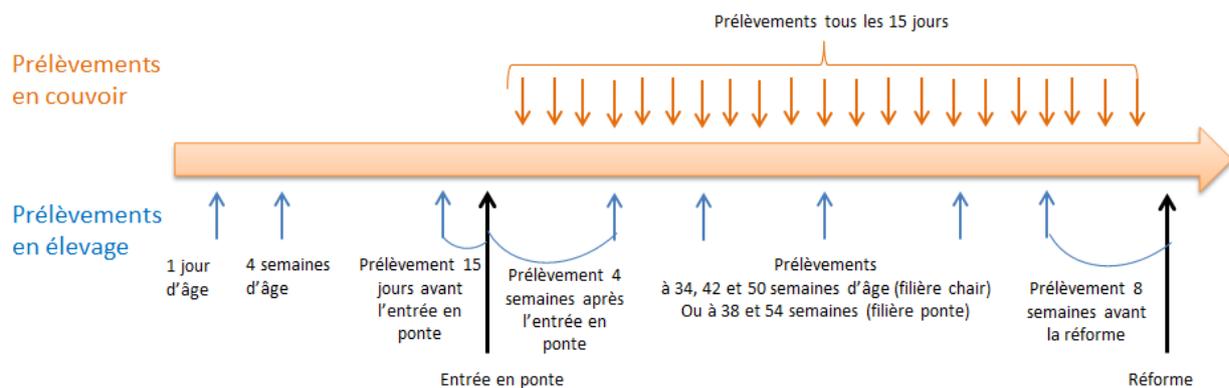
### Modalités de surveillance selon la réglementation européenne pour l'exportation d'œufs à couvrir

Prélèvements  
en couvoir



Prélèvements  
en élevage

### Modalités de surveillance selon la réglementation française



**Figure 1 : Comparaison des obligations en terme de dépistage entre la réglementation européenne pour l'exportation d'œufs à couvrir et la réglementation française, pour la surveillance des salmonelles.**

Au final, la question posée est de déterminer si un dépistage qui s'effectue majoritairement au couvoir et également à l'élevage de façon plus espacée que le rythme fixé par le règlement 200/2010, peut constituer une garantie équivalente au dépistage uniquement réalisé dans l'élevage à une fréquence plus élevée. Une telle alternative ne peut cependant s'appliquer qu'aux troupeaux dont seulement une partie de leur production est destinée aux échanges et non aux troupeaux exportant la totalité de leurs œufs à couvrir.

#### Argumentation et réponse à la question posée

Il faut souligner d'emblée que l'argumentaire développé pour répondre à la question posée repose, non pas sur des références scientifiques (inexistantes), mais sur des avis d'experts et des dires des professionnels audités fondés sur leurs propres expériences et leurs observations.

Pour faire l'objet d'échanges intracommunautaires, les œufs à couvrir doivent répondre à certaines exigences sanitaires notamment, pour ce qui est des sérotypes de *Salmonella* réglementés, satisfaire à des exigences spécifiques de contrôle dont les résultats figurent dans un certificat sanitaire délivré par un vétérinaire officiel. La garantie sanitaire repose essentiellement, ici, sur la qualité du dépistage salmonellique réalisé dans l'élevage et/ou dans le couvoir. A tout moment, une faille dans l'application des mesures de biosécurité ou la livraison d'un aliment contaminé peut permettre l'introduction de l'agent pathogène dans

l'élevage, la contamination des pondeuses en sélection ou en multiplication puis, par l'intermédiaire des œufs infectés ou contaminés, la contamination du couvoir qui va entraîner, après éclosion la dispersion des salmonelles dans les étages de multiplication ou de production.

Selon la réglementation française, les prélèvements en cours de ponte sont effectués en couvoir et en élevage.

- Les prélèvements en couvoir sont prévus chaque quinzaine, l'échantillonnage devant être réalisé un jour d'éclosion où des échantillons de tous les troupeaux reproducteurs sont disponibles. Cette modalité présente, selon les professionnels auditionnés, des avantages pratiques et financiers indéniables en réduisant le nombre d'échantillons à prélever et le nombre d'intervenants (un échantillon, qui nécessite l'intervention d'un seul préleveur en un seul site, concerne plusieurs élevages). Le dépistage en couvoir est, en outre, réputé plus sensible car il permet de révéler un niveau d'infection faible (par exemple, lié à une contamination récente qui n'a pas eu le temps de s'amplifier dans l'élevage et, de ce fait, affecte une faible proportion des pondeuses, ou lorsque l'excrétion fécale est faible et intermittente). En effet, par leur nombre généralement important, les œufs rassemblés en couvoir constituent un échantillon aléatoire représentatif de chaque parquet pour une détection efficace des salmonelles qu'ils hébergent. En outre, la sensibilité du dépistage est accentuée par l'effet favorable des conditions de température et d'hygrométrie durant la couaison et l'éclosion sur la multiplication des salmonelles (piégées au niveau de la membrane coquillière externe ou subsistant sur la coquille en dépit de la désinfection pratiquée sur les œufs après collecte, ou présentes dans l'œuf à la suite d'une contamination verticale). Les mêmes échantillons permettent en plus de détecter une contamination dont l'origine peut être soit l'élevage, soit le couvoir.
- Les prélèvements complémentaires dans les parquets sont réalisés selon un rythme plus faible que celui prévu dans la réglementation européenne lorsque le dépistage est réalisé uniquement en élevage (toutes les 8 semaines en filière chair, plus espacés en filière ponte, et non pas tous les 15 jours). Ils visent, s'il en est besoin, à confirmer le statut indemne des élevages tel que révélé par les analyses en couvoir. On pourrait admettre la possibilité que les prélèvements environnementaux permettent la détection de salmonelles éliminées en surface des coquilles, lors de la désinfection pratiquée après la collecte des œufs, bien que souvent la désinfection en élevage, fréquemment trop tardive, n'ait aucun effet sur les bactéries déjà introduites dans la coquille ou ayant atteint la membrane coquillière (ce qui se produit notamment lorsque les œufs sont maintenus trop longtemps en zone contaminée et que la désinfection en élevage intervient trop tardivement après la ponte).

Outre cette différence dans les protocoles de prélèvements, les techniques bactériologiques imposées par la réglementation française dans les élevages de sélection/multiplication présentent, du fait de l'utilisation systématique d'une voie d'enrichissement supplémentaire, une meilleure sensibilité que celles imposées par la réglementation communautaire.

Le dépistage en élevage, tel qu'exigé dans le cadre des échanges et exportations d'œufs à couver, doit être réalisé tous les 15 jours. Les modalités de prélèvements doivent permettre d'atteindre l'objectif affiché de déceler une prévalence de 1 % au sein de chaque parquet avec une limite de confiance de 95 %. Leur rythme présente l'avantage de permettre la détection précoce d'une infection récente impactant un nombre élevé de pondeuses ou ayant la capacité de diffuser rapidement au sein de l'effectif. En effet, une telle infection peut n'être détectée en couvoir qu'à l'issue de la période d'incubation des œufs, à laquelle il faut ajouter le temps de stockage dévolu à la constitution des lots suite à la collecte des œufs après la ponte et leur transfert au couvoir. Le dépistage en élevage peut être, en revanche, retardé ou mis en défaut dans le cas d'une infection de faible ampleur, affectant un nombre

limité de poudeuses et associée à une excrétion fécale faible, notamment lorsque des pratiques sont susceptibles de réduire l'efficacité du dépistage en diminuant l'excrétion fécale ou en inhibant la survie des salmonelles dans l'environnement (cf. réponses aux premières questions de la saisine dans le cadre d'une AST).

Compte tenu de la question posée dans la saisine, les deux méthodes doivent être analysées en termes, d'une part, de détection des élevages infectés dans le cadre d'un objectif d'épidémiologie, d'autre part, de contrôles destinés à apporter une garantie sanitaire dans le cadre d'échanges commerciaux.

En termes d'épidémiologie, la méthode fondée sur le dépistage systématique en couvoir complété par des contrôles espacés dans les parquets cumule des avantages en termes de sensibilité pour la détection des salmonelles et de facilité (moins contraignante) pour les éleveurs. Il s'avère pourtant que les accoueurs, à l'étape sélection, vont au-delà des exigences réglementaires en associant, souvent, un dépistage toutes les deux semaines dans les parquets et un dépistage systématique dans chaque éclosoir dès l'enlèvement des poussins. En effet, si on considère un délai d'un mois au moins entre la ponte et l'éclosion à l'issue de laquelle sont faites les analyses au couvoir, il est probable que l'élevage dont sont issus les œufs contaminés ait été, à raison d'un dépistage tous les 15 jours, déjà contrôlé à deux reprises, le second contrôle intervenant au moins 15 jours après la mise en incubation des œufs et avant le contrôle à l'éclosion. Ce dépistage, s'il est positif, permet de retirer les œufs issus du parquet suspect, qu'ils soient stockés ou déjà placés en incubateur, prévenant les problèmes de diffusion des salmonelles à l'éclosion et limitant les risques de contamination du couvoir. De telles pratiques, qui découlent pour l'accoureur d'une analyse bénéfico-risque, se rencontrent aussi parfois à l'étape multiplication. En effet, prévenir toute introduction de salmonelles dans les couvoirs et éviter toute livraison de poussins infectés constituent, pour les accoueurs, un important enjeu sanitaire et financier, d'où l'intérêt des contrôles en élevage pour limiter le risque d'introduction d'œufs contaminés en couvoir, le contrôle en couvoir intervenant comme une dernière sécurité.

Dans le cadre d'une garantie sanitaire pour des échanges commerciaux, il est impératif que les œufs expédiés proviennent d'élevages sains et soient assurément exempts d'infection et de contamination salmonelle, afin, d'une part, de prévenir toute introduction de salmonelles au couvoir, et d'autre part, d'éviter la livraison, depuis ce couvoir, de poussins infectés. A ce titre, un avantage apporté par le dépistage en amont dans les parquets est celui de l'antériorité, d'autant que peut s'ajouter le risque éventuellement généré par l'interdiction du formol comme biocide utilisé dans la désinfection des œufs au profit d'autres produits dont l'équivalence, en termes d'efficacité désinfectante des coquilles, n'est pas encore totalement validée. Une telle éventualité augmenterait le risque d'introduction d'œufs contaminés dans les couvoirs.

En conséquence, en prenant en compte la notion de temporalité précédemment évoquée et sans remettre en cause la sensibilité de la méthode de dépistage associant des contrôles rapprochés au couvoir et plus espacés en élevage telle qu'appliquée en France, les experts considèrent, au regard d'une certification dans le cadre des échanges, que la modalité telle qu'imposée par le règlement 200/2010 en cas d'échanges d'œufs à couver au sein de l'Union européenne, apporte, dans la limite de la sensibilité dévolue à la méthode, une meilleure garantie sanitaire. Toutefois, la rareté des infections salmonelles relativise la plus-value apportée par l'application stricte de la réglementation communautaire. Les limites précédemment énoncées contraignent néanmoins les couvoirs importateurs à vérifier l'absence de salmonelles à l'issue de l'éclosion des lots importés. C'est d'ailleurs la solution adoptée en routine par les sélectionneurs, chez lesquels la garantie apportée, qui va au-delà des seuls sérotypes réglementés, s'appuie sur des contrôles renforcés en élevage comme au couvoir.

**Analyse et réponse à la question 3 : « Dépistage des troupeaux reproducteurs à l'éclosion : les modalités et conditions de réalisation du dépistage à l'éclosion des troupeaux reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus* sont-elles satisfaisantes ? Quels aménagements permettraient d'optimiser le dépistage à l'éclosion ? »**

Analyse de la question posée

Le dépistage obligatoire dans les troupeaux de reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus*, tel que prescrit par les deux arrêtés de lutte du 26 février 2008 relatifs à la lutte contre les infections à *Salmonella* en filières ponte et chair, s'effectue en France essentiellement au couvoir où sont livrés les œufs à couvrir produits pour chaque troupeau de reproducteurs à tester. Les prélèvements y sont effectués toutes les deux semaines, l'échantillonnage devant avoir lieu un jour d'éclosion où des échantillons de tous les troupeaux reproducteurs sont disponibles.

Pour chaque série de prélèvements, lors de l'éclosion au moins un échantillon doit être prélevé par cheptel reproducteur. Trois types de prélèvements sont autorisés conformément aux prescriptions (point 2.2.1 de l'annexe) du règlement 200/2010.

- un échantillon composite de garnitures de paniers d'éclosoirs visiblement souillées, prélevées au hasard dans 5 paniers d'éclosoirs distincts pour atteindre une superficie totale d'au moins 1 mètre carré. Si les œufs à couvrir d'un même troupeau de reproducteurs occupent pour cette éclosion plus d'un éclosoir, cet échantillon composite de garnitures de paniers d'éclosoirs est prélevé dans chacun des éclosoirs, jusqu'à concurrence de cinq éclosoirs. Ces prélèvements peuvent être réunis avant l'envoi au laboratoire et soumis à l'analyse sous la forme d'un seul échantillon composite ;

- un échantillon de 250 g de coquilles constitué de 25 unités de 10 g de coquilles d'œufs brisées provenant de 25 paniers d'éclosoirs distincts. Si les œufs à couvrir d'un même troupeau de reproducteurs occupent pour cette éclosion plus d'un éclosoir, cet échantillon composite est prélevé dans chacun des éclosoirs, jusqu'à concurrence de cinq éclosoirs. Ces prélèvements peuvent être réunis avant l'envoi au laboratoire et soumis à l'analyse sous la forme d'un seul échantillon composite ;

- un échantillon prélevé à l'aide d'une chiffonnette, immédiatement après l'enlèvement des poussins ou par dérogation au début de la journée d'éclosion, sur la totalité du fond d'au moins cinq paniers d'éclosoirs, ou sur du duvet recueilli à cinq endroits, y compris au sol, dans tous les éclosoirs contenant des œufs éclos du troupeau, jusqu'à concurrence de cinq éclosoirs, en veillant à ce qu'au moins un échantillon soit prélevé par troupeau dont les œufs proviennent.

Comme le souligne le pétitionnaire dans sa saisine, les professionnels ont rarement recours à la deuxième possibilité (coquilles), et privilégient l'échantillon prélevé à l'aide d'une chiffonnette, plutôt que l'échantillon composite de garnitures de paniers d'éclosoirs. En outre, les chiffonnettes sont souvent passées au cours de la journée précédant l'éclosion complète, dans des conditions, selon le pétitionnaire, difficiles à contrôler.

La question posée porte sur la sensibilité des trois types de prélèvements et leur adéquation avec l'objectif poursuivi, qui consiste bien à détecter les troupeaux reproducteurs contaminés à l'amont des filières en ciblant tous les parquets en activité. Afin d'y répondre, il est nécessaire de tenir compte du fait que, très souvent, des œufs à couvrir provenant de plusieurs troupeaux reproducteurs éclosent dans la même machine.

Argumentation et réponse à la question posée

A la connaissance des experts, aucune publication scientifique ni aucun rapport technique disponibles ne font état d'études comparatives de sensibilité des trois méthodes proposées pour le dépistage des salmonelles en couvoir.

Le choix d'une méthode relève d'autres considérations découlant notamment de leur praticabilité.

Selon les professionnels auditionnés, la méthode des prélèvements de coquilles n'est pas adaptée du fait des contraintes (25 fois 10 g). La méthode des prélèvements de garnitures de paniers d'éclosoirs, si elle peut permettre d'identifier assez facilement les lots contaminés, s'avère compliquée à mettre en œuvre notamment au niveau des laboratoires (phase de pré-enrichissement nécessitant un important volume d'eau peptonée tamponnée). De plus, la manipulation de ces prélèvements en laboratoire est délicate car, les coquilles et les importants volumes d'eau peptonée tamponnée qu'il est nécessaire d'ajouter peuvent percer les poches d'eau peptonée, entraînant un risque accru de contaminations croisées. Ces deux méthodes sont donc plus coûteuses que la méthode des chiffonnettes et ne permettent pas de réaliser un dépistage systématique de l'ensemble des lots.

Les professionnels, notamment pour les gros couvoirs, privilégient donc l'échantillon prélevé à l'aide d'une chiffonnette, en raison notamment de sa facilité de réalisation et de son coût de réalisation plus faible. Selon les professionnels, les données accumulées au fil des années sur l'utilisation de cette méthode montrent une sensibilité au moins aussi bonne que les deux autres méthodes, y compris pour détecter une faible contamination passée inaperçue en élevage, situation dans laquelle une faible proportion des œufs issus d'un élevage récemment ou faiblement contaminé, peut héberger des salmonelles.

Sans pouvoir, faute de données bibliographiques, statuer sur la sensibilité comparée des trois méthodes, les experts reconnaissent à la méthode fondée sur la réalisation de prélèvements à l'aide de chiffonnettes l'intérêt de permettre de tester toutes les parties de l'éclosoir (aussi bien le fond des paniers, le sol, les parois que les pales des ventilateurs) éventuellement contaminées du fait de la dispersion des salmonelles survenant lors de l'éclosion des œufs contaminés ou infectés et des conditions de température et d'hygrométrie qui facilitent leur prolifération. Il faut souligner, cependant, que la méthode n'aura de pleine valeur, en termes d'échantillonnage, que si les prélèvements sont réalisés dans tous les éclosoirs (en ciblant tous les parquets en activité) et à la fin de la période d'éclosion afin de prendre en compte un maximum d'œufs.

Son aptitude à détecter les troupeaux reproducteurs contaminés à l'amont des filières est bonne dès lors qu'elle cible tous les parquets en activité. Comme les autres méthodes, l'identification des élevages dont des œufs sont réunis dans l'éclosoir reconnu infecté est assurée par la traçabilité des lots d'œufs à couvrir. Elle permet de bloquer l'ensemble de ces élevages dès les premiers résultats d'analyses suspects d'être positifs et d'y mettre en œuvre des mesures de dépistage, dès confirmation.

Au final, les experts considèrent que la méthode des prélèvements à l'aide de chiffonnettes est une méthode au moins aussi sensible que les prélèvements de garnitures de paniers ou de coquilles, à condition d'être réalisée dans le respect des procédures, notamment immédiatement après l'enlèvement des poussins.

**Analyse et réponse à la Question 4 : « *Maintien de l'autorisation de vacciner à l'étage multiplication de la filière chair : la vaccination à l'étage de multiplication en filière chair est-elle compatible avec l'assainissement durable des bâtiments contaminés ?* »**

Analyse de la question posée

La question concerne exclusivement les volailles de reproduction au stade de multiplication de l'espèce *Gallus gallus* dans la filière chair, c'est-à-dire les établissements dont l'activité consiste à produire les œufs à couver dont seront issus les poussins destinés à la production de poulets de chair. La réglementation (article 20 de l'arrêté du 26 février 2008 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella* dans les troupeaux de reproduction de l'espèce *Gallus gallus* en filière chair)<sup>6</sup> donne la possibilité aux éleveurs d'y pratiquer la vaccination avec (et seulement avec) des vaccins inactivés autorisés.

L'argumentaire présenté par le pétitionnaire accompagnant la question est le suivant : « *Compte tenu de l'augmentation des suspicions (APMS) à l'étage multiplication de la filière chair, qui souvent ne sont pas confirmées, et du caractère stratégique d'un assainissement durable et complet de cet étage, la question est de savoir s'il ne conviendrait pas de supprimer purement et simplement la possibilité de vacciner. Dans l'affirmative, à l'instar de la filière ponte, le plan de lutte appliqué à l'étage multiplication de la filière chair serait basé sur une prophylaxie strictement sanitaire ayant pour objectif d'assainir durablement les bâtiments contaminés, même faiblement.* »

Argumentation et réponse à la question posée

Les vaccins bactériens inactivés « autorisés » (tels que mentionnés dans les arrêtés susvisés) sont, soit des vaccins commerciaux visant les sérotypes Enteritidis et/ou Typhimurium et disposant d'une AMM en France, soit des autovaccins visant notamment les trois sérotypes Infantis, Hadar et Virchow pour lesquels il n'existe pas de vaccin commercial. Cependant, à la différence des vaccins disposant d'une AMM (dont les effets attendus mentionnés dans les RCP résultent d'expérimentations contrôlées), on ne dispose d'aucune donnée sur l'efficacité des autovaccins.

La question des vaccins contre la salmonellose aviaire et de leur intérêt dans la lutte contre cette maladie a déjà fait l'objet de diverses analyses, notamment un avis de l'EFSA adopté en 2004 (EFSA, 2004). Les données publiées depuis cette période, peu nombreuses pour ce qui est des vaccins bactériens inactivés (De Freitas Neto *et al.* 2008, Desin, Koster, et Potter 2013, Penha Filho *et al.* 2009, Inoue *et al.* 2008, Atterbury *et al.* 2009), ne remettent pas en question les conclusions et recommandations présentées dans cet avis, lesquelles seront largement reprises dans la présente argumentation.

Les études expérimentales, complétées par quelques études de terrain, concernent essentiellement le sérovar Enteritidis (Desin, Koster, et Potter 2013). Elles montrent que la vaccination peut permettre d'augmenter la résistance à l'infection des poules vaccinées, de limiter la diffusion systémique de la bactérie (donc l'atteinte des organes reproducteurs) et de réduire le risque de contamination des œufs chez les volailles infectées, de réduire la colonisation intestinale, l'excrétion fécale et le risque de contamination des coquilles des œufs. En outre l'administration parentérale des vaccins inactivés peut induire une forte production d'anticorps, permettant par transfert « maternel » d'augmenter la résistance des poussins vis-à-vis d'une infection par ce même sérotype. Certains de ces effets, lorsqu'ils ont pu être démontrés dans leur dossier d'AMM, sont mentionnés dans le RCP des vaccins commercialisés.

<sup>6</sup> La vaccination est, en revanche, interdite chez les volailles de reproduction au stade sélection dans la filière chair, ainsi que chez les volailles de reproduction dans la filière œufs de consommation.

En revanche, même s'il apparaît que le niveau de protection vaccinale le plus élevé est constaté dans les cas de faible exposition à l'infection salmonellique (Davies et Breslin 2003), il est clairement démontré que la vaccination, à elle seule, ne permet d'empêcher, ni l'infection des oiseaux vaccinés, ni la persistance de l'infection dans le troupeau (EFSA, 2004). Comme le soulignent les experts de l'EFSA, le succès de la maîtrise des infections salmonelliques repose sur le respect des bonnes pratiques d'élevage et d'hygiène, la vaccination n'étant qu'une mesure complémentaire visant à augmenter la résistance des volailles et réduire l'excrétion salmonellique. Or, si elle peut être utile pour réduire la prévalence et l'excrétion de *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* lorsque la prévalence d'infection est élevée, elle l'est moins lorsque la prévalence est faible. En fait, son intérêt, en termes de gestion, dépend du type d'élevage, de l'étage de production, de la prévalence d'infection et des objectifs du programme de lutte (réduction ou éradication).

S'agissant de l'étage multiplication en filière chair reproduction (Chasset *et al.* 2015), la prévalence apparente d'infection était, en 2014 pour *S. Enteritidis*, de 0,17 % (2 foyers pour 1199 troupeaux contrôlés) en préonte et de 0,35 % (5 foyers pour 1442 troupeaux contrôlés) en ponte. Pour *S. Typhimurium* (y compris les variants immobiles), la prévalence apparente était nulle en préonte, et de 0,35 % en ponte. La situation s'est un peu améliorée en 2015 en ponte (2 parquets infectés, l'un par *S. Enteritidis*, l'autre par *S. Typhimurium* (communication DGAI, 2016)<sup>7</sup>. L'évolution par rapport aux années antérieures est rapportée dans le tableau ci-après. Elle est marquée surtout par la réapparition de foyers d'infection par *S. Enteritidis* après deux années en 2011 et 2012 sans foyer. La prévalence de l'infection en filière chair diffère de celle constatée en filière ponte dans laquelle aucun foyer n'a été observé au stade multiplication en 2014 et en 2015 (mais pour un nombre de cheptels dix fois moins important).

Tableau 1 : Evolutions des prévalences d'infection par *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* pour les reproducteurs *Gallus gallus* en filière chair à l'étage multiplication.

<i>Salmonella</i>	Stade	Prévalence d'infection exprimée en % par année								
		2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015 <sup>3</sup>
Enteritidis	préonte	0,12	0,6	0,2	0	0	0	0,09	0,17	0,24
	ponte	0,33	0,1	0,1	0,3	0	0	0,08	0,35	0,06
Typhimurium	préonte	0,2	0	0	0	0	0,47	0,09	0	0,08
	ponte	0	0,6	0	0,23	0,3	0,05	0,08	0,35	0,06

L'objectif affiché de la lutte contre la salmonellose aviaire pour les reproducteurs *Gallus gallus* en filière chair à l'étage multiplication (comme celui affiché en filière ponte) est l'éradication. Cet objectif facilité par le faible nombre de cheptels infectés mais conditionné par la poursuite des efforts, notamment en termes de biosécurité, consentis par les acteurs de la filière, se justifie par la nécessité de prévenir tout risque de transfert d'infection salmonellique de l'étage multiplication à l'étage production (troupeaux de volailles de chair).

Or, dans un contexte de faible prévalence et d'objectif d'éradication, la vaccination, qui ne peut empêcher l'excrétion, ne peut être considérée comme une option soutenable.

Par ailleurs, la sensibilité du dépistage bactériologique, qui découle notamment de la qualité de l'échantillonnage des prélèvements dans les élevages et le choix des méthodes analytiques d'investigation au laboratoire, est aussi dépendante du niveau d'excrétion salmonellique. Un niveau d'excrétion élevé facilite le dépistage. Sa sensibilité diminue si le nombre d'excréteurs est faible ou l'excrétion intermittente. Or, et c'est un des effets revendiqués de la vaccination, l'excrétion fécale peut être réduite dans les cheptels vaccinés, abaissant de fait la sensibilité du dépistage (Davies et Breslin, 2003). Cette éventualité est d'ailleurs prise en compte en donnant la possibilité au DDecPP de renforcer la surveillance des troupeaux vaccinés (Annexe III des deux arrêtés du 26 février 2008).

<sup>7</sup> Informations sur les prévalences d'infection par *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* pour les reproducteurs *Gallus gallus* en filière chair à l'étage multiplication en 2015 transmises par la DGAL.

L'argumentation jusqu'ici présentée concerne l'infection par *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium*. Pour ce qui est des autres sérotypes réglementairement visés, en l'absence d'études disponibles, il est difficile de définir la part de l'impact éventuel de la vaccination par des vaccins inactivés (autovaccins, du fait de l'absence de vaccins commerciaux disponibles) dans la maîtrise des infections correspondantes. Les mesures de biosécurité sont donc le seul recours recommandable pour la protection des élevages.

Au vu de l'objectif affiché d'éradication, de la faible prévalence de l'infection par les sérotypes réglementés (en particulier *S. Enteritidis*), du caractère stratégique d'un assainissement durable et complet de cet étage de la filière et de la nécessité de garantir une bonne sensibilité des opérations de dépistage, les experts reconnaissent comme fondée la proposition de baser la maîtrise de l'infection salmonellique à l'étage multiplication en filière chair reproduction, sur une prophylaxie strictement sanitaire, et d'y interdire, à l'instar de ce qui est appliqué dans la filière ponte, la vaccination.

Les experts reconnaissent néanmoins l'intérêt d'envisager la possibilité d'accorder des dérogations à l'interdiction éventuelle de vaccination, pour tenir compte de certaines conditions épidémiologiques particulières, par exemple un contexte d'environnement très contaminé mettant en défaut les mesures de biosécurité, ou la difficulté d'obtenir la décontamination d'un élevage.

### **III. Conclusions**

#### **Partie I : Questions relatives à la diminution des taux de confirmation dans les différentes filières**

##### **Question 1 : « Origine de la baisse du taux de confirmation »**

- Il est difficile d'évaluer statistiquement s'il y a une baisse du taux de confirmation des infections salmonelliques dans les filières avicoles en France entre 2012 et 2014 compte tenu de la courte période étudiée, de la faible fréquence des suspicions dans les étages supérieurs des filières et des variations annuelles importantes du nombre de cas. La baisse du taux de confirmation serait confirmée en 2013 et 2014 par rapport à 2012 pour les troupeaux de poules pondeuses d'œufs de consommation mais ce constat devrait être consolidé en tenant compte des éventuels APDI directs pris en 2012 et 2013 dans cette filière.
- La confirmation, telle que prévue dans les arrêtés de lutte, survient dans deux situations épidémiologiques distinctes : en 2014, environ deux tiers des actes de confirmation ont fait suite à un dépistage positif sur le troupeau et un tiers à une suspicion sur lien épidémiologique avec un cas avéré.
- La confirmation d'une suspicion sur lien épidémiologique relève plus d'un acte de dépistage complémentaire ciblé que d'une réelle confirmation d'infection. Elle apporte des éléments épidémiologiques indispensables à l'identification de l'origine d'un foyer et à la gestion opérationnelle du cas index d'infection.
- L'absence de confirmation d'une infection salmonellique suite à un dépistage positif est un phénomène fréquent dans toutes les filières et à tous les étages.
- Le ré-isolément d'une salmonelle dans un troupeau suspect peut dépendre de facteurs épidémiologiques et de facteurs liés aux conditions de réalisation de la confirmation.

- La faible prévalence de l'excrétion salmonellique dans les troupeaux infectés, particulièrement ceux vaccinés, semble fréquente et impacterait fortement la probabilité de ré-isollement de la bactérie.
- On constate au vu des données épidémiologiques collectées en 2014 qu'une suspicion est d'autant plus fréquemment confirmée qu'un nombre important de prélèvements de dépistage est positif, témoignant d'un niveau de contamination élevé au sein du troupeau.
- Les informations épidémiologiques et bibliographiques actuellement disponibles ne permettent pas une hiérarchisation des facteurs influençant la confirmation selon leur importance relative, dans la survenue des non confirmations suite à un dépistage positif.

**Question 2 : « Effets des agents biologiques ou des agents interférant sur le dépistage »**

- L'utilisation d'agents potentiellement interférant avec le dépistage ne peut être exclue des facteurs influençant la confirmation suite à un dépistage positif. Il existe des éléments suffisants pour considérer que les antibiotiques, les désinfectants, les traitements acidifiant, alcalinisant et asséchant des litières et les flores de barrières orales pourraient interférer avec la confirmation d'infection. Pour les flores de barrières environnementales, le manque de données ne permet pas de conclure quant à leur impact sur la confirmation. L'utilisation de ces produits, à l'exception des antibiotiques, n'est pas à reporter réglementairement dans le registre d'élevage et il n'existe donc pas de données directement disponibles sur leur usage en élevage.
- La survenue d'absence de pousse sur prélèvement de confirmation est un résultat anormal dont il est difficile d'estimer la fréquence en l'absence d'exhaustivité de son report dans SIGAL. Il s'agit d'un indicateur indirect de l'utilisation volontaire ou involontaire d'un agent interférant avec le dépistage et elle justifierait *a minima* la réalisation de nouveaux prélèvements pour conclure sur le résultat de la confirmation.

**Question 3 : « Conditions justifiant des prélèvements de confirmation après une première positivité »**

- Le respect des plans minimaux d'échantillonnage prévus dans les arrêtés de lutte permet, selon l'état actuel des connaissances, d'assurer une sensibilité élevée du protocole de confirmation. L'augmentation du nombre de prélèvements ne serait à considérer que pour des situations épidémiologiques particulières telles que le dépistage dans un troupeau vacciné.
- L'obtention et l'analyse d'informations complémentaires sur les conditions de réalisation des prélèvements de confirmation pourraient permettre, sur les cas incidents, de mieux caractériser l'impact de certains facteurs sur la probabilité de ré-isollement des salmonelles dans un troupeau dépisté positif. Cette étude est un préalable nécessaire pour orienter une éventuelle étude d'intervention sur la réalisation des prélèvements de confirmation.

**Partie II : Autres questions liées à l'efficacité des plans de lutte officiels**

**Question 1 : « Dépistage à partir des eaux de lavage »**

Les experts constatent qu'ils disposent de très peu de données de la littérature sur le dépistage des salmonelles à partir des eaux de lavage. Suite à l'audition de professionnels la pratiquant, les experts considèrent que cette méthode pourrait représenter un intérêt potentiel en tant qu'outil de contrôle additionnel des contrôles réglementaires (règlement (CE) n°2160/2003), permettant de statuer sur la contamination du bâtiment. Cependant, les experts ne peuvent pas recommander cette méthode tant qu'elle ne sera pas validée par des

études plus précises portant sur les méthodes d'échantillonnage et les techniques d'analyses utilisables à partir de cette matrice.

**Question 2 : « Echanges d'œufs à couvrir »**

Comme pour la question 1, les experts constatent l'absence de données de la littérature comparant les différentes méthodes de dépistage des salmonelles en élevage et en couvoir, notamment sur leur sensibilité. Cependant, les experts considèrent, au regard d'une certification dans le cadre des échanges d'œufs à couvrir, que la modalité telle qu'imposée par le règlement (UE) 200/2010, portant sur un dépistage toutes les deux semaines en élevage, apporte une meilleure garantie sanitaire que la modalité imposée par la réglementation française, dans le cadre d'échanges nationaux (arrêtés du 26 février 2008), combinant un dépistage toutes les deux semaines en couvoir et trois dépistages en élevage. Toutefois, la rareté des infections salmonelliques et l'apparente plus grande sensibilité, aux dires des professionnels, du dépistage en couvoir par rapport au dépistage en élevage relativise la plus-value apportée par la réglementation européenne.

**Question 3 : « Dépistage des troupeaux de reproducteurs à l'éclosion »**

Tout comme pour les questions précédentes, les experts notent l'absence de données issues de la littérature permettant de comparer les trois méthodes de prélèvements (coquilles d'œufs, fonds d'éclosoir et chiffonnettes). En s'appuyant sur les dires des professionnels auditionnés, les experts considèrent que la méthode des prélèvements à l'aide de chiffonnettes est une méthode plus pratique (tant au niveau des couvoirs que des laboratoires réalisant les analyses) et au moins aussi sensible que la méthode de prélèvements de garnitures de paniers ou de coquilles, à condition d'être réalisée dans le respect des procédures, notamment immédiatement après l'enlèvement des poussins.

Dans la réponse à ces trois questions, les experts recommandent la mise en place d'études complémentaires permettant d'enrichir la littérature en données qui serviront à justifier l'utilisation des différentes méthodes de dépistage existantes.

**Question 4 : « Maintien de l'autorisation de vacciner à l'étape multiplication de la filière chair »**

Au vu de l'objectif affiché d'éradication, de la faible prévalence de l'infection par les sérotypes réglementés (en particulier *S. Enteritidis*), du caractère stratégique d'un assainissement durable et complet de cet étage de la filière et de la nécessité de garantir une bonne sensibilité des opérations de dépistage, les experts recommandent de faire reposer la maîtrise de l'infection salmonellique à l'étape multiplication en filière chair reproduction sur une prophylaxie strictement sanitaire, et d'interdire, à l'instar de ce qui est appliqué dans la filière ponte, la vaccination. Néanmoins, les experts reconnaissent l'intérêt d'envisager la possibilité d'accorder des dérogations à l'interdiction éventuelle de vaccination pour tenir compte de certaines conditions épidémiologiques particulières, par exemple un contexte d'environnement très contaminé mettant en défaut les mesures de biosécurité.

#### **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du Laboratoire Anses de Ploufragan-Plouzané et du CES SABA relatives à l'amélioration des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture, notamment en matière de dépistage.

Le Directeur général

Dr Roger Genet

#### **MOTS-CLES**

Salmonelle, aviculture, *Gallus gallus*, dépistage, plans de lutte officiels

*Salmonella*, poultry, *Gallus gallus*, detection, official control plans

BIBLIOGRAPHIE

- Anonyme. 2010. "Le lavage et la désinfection des poulaillers... Qu'en est-il?" *AGRI-NOUVELLES*.
- Atterbury, R. J., J. J. Carrique-Mas, R. H. Davies, et V. M. Allen. 2009. "Salmonella colonisation of laying hens following vaccination with killed and live attenuated commercial Salmonella vaccines." *Veterinary Record* 165 (17):493-6.
- Chasset, Patrice, François Guillon, Bernard Delsocoro, Eric Le Leu, Adeline Huneau-Salaün, et Mylène Bohnert. 2015. "Bilan d'exécution du programme de lutte contre *Salmonella* dans les troupeaux d'espèces *Gallus gallus* et *Meleagris gallopavo*." *Bull. Epid Santé Anim Alim.* 71:66-71.
- Davies, R., et M. Breslin. 2003. "Effects of vaccination and other preventive methods for *Salmonella* enteritidis on commercial laying chicken farms." *Veterinary Record* 153 (22):673-7.
- De Freitas Neto, O. C., A. L. Mesquita, J. B. de Paiva, F. Zotesso, et A. Berchieri Junior. 2008. "Control of *Salmonella* enterica serovar Enteritidis in laying hens by inactivated *Salmonella* Enteritidis vaccines." *Braz J Microbiol* 39 (2):390-6. doi: 10.1590/s1517-838220080002000034.
- Desin, T. S., W. Koster, et A. A. Potter. 2013. "Salmonella vaccines in poultry: past, present and future." *Expert Rev Vaccines* 12 (1):87-96. doi: 10.1586/erv.12.138.
- EFSA. 2004. "Opinion of the Scientific Panel on biological hazards (BIOHAZ) related to the use of vaccines for the control of *Salmonella* in poultry." European Food Safety Authority. *EFSA Journal* 2 (12):114-n/a. doi: 10.2903/j.efsa.2004.114.
- Hudson, L. K., M. A. Harrison, M. E. Berrang, et D. R. Jones. 2016. "Alternative Antimicrobial Commercial Egg Washing Procedures." *J Food Prot* 79 (7):1216-20. doi: 10.4315/0362-028x.jfp-15-423.
- Inoue, A. Y., A. Berchieri, Jr., A. Bernardino, J. B. Paiva, et E. V. Sterzo. 2008. "Passive immunity of progeny from broiler breeders vaccinated with oil-emulsion bacterin against *Salmonella* enteritidis." *Avian Diseases* 52 (4):567-71. doi: 10.1637/8096-082707-Reg.1.
- Penha Filho, R. A., J. B. de Paiva, Y. M. Arguello, M. D. da Silva, Y. Gardin, F. Resende, A. B. Berchieri Junior, et L. Sesti. 2009. "Efficacy of several vaccination programmes in commercial layer and broiler breeder hens against experimental challenge with *Salmonella* enterica serovar Enteritidis." *Avian Pathol* 38 (5):367-75. doi: 10.1080/03079450903183645.
- Sanchez-Maldonado, A. F., M. Aslam, C. Service, C. Narvaez-Bravo, B. P. Avery, R. Johnson, et T. H. Jones. 2016. "Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from two pork processing plants in Alberta, Canada." *Int J Food Microbiol* 241:49-59. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.004.
- Soria, M. C., M. A. Soria, et D. J. Bueno. 2013. "A comparative study of culture methods and PCR assay for Salmonella detection in poultry drinking water." *Poult Sci* 92 (1):225-32. doi: 10.3382/ps.2012-02254.
- Thompson, D. E., V. B. Rajal, S. De Batz, et S. Wuertz. 2006. "Detection of *Salmonella* spp. in water using magnetic capture hybridization combined with PCR or real-time PCR." *J Water Health* 4 (1):67-75.

**ANNEXE 1 : PRESENTATION DES INTERVENANTS**

**PRÉAMBULE** : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

Rapporteurs

Mme Laëtitia BONIFAIT – Responsable LNR Salmonelle aviculture, Unité Hygiène et Qualité des produits avicoles et porcins Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané (diagnostic des salmonelles)

M. Jean-Pierre GANIÈRE – Professeur émérite, Oniris Nantes (maladies contagieuses, réglementation, zoonoses)

M. Jean GUILLOTIN – Directeur, Laboratoire départemental d'Analyses du Nord (diagnostic de laboratoire, infectiologie)

M. Hervé MORVAN – Chef du service bactériologie vétérinaire, Labocéa 22 (diagnostic laboratoire, bactériologie, dépistage des salmonelles)

**Comité d'experts spécialisé**

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis par le CES suivant :

- CES Santé et Bien Etre des Animaux (SABA)

Président

M. Etienne THIRY – Professeur, Faculté de médecine vétérinaire de Liège (infectiologie, immunologie, vaccinologie, virologie)

Membres

Mme Suzanne BASTIAN – Maître de conférence, Oniris Nantes (épidémiologie, bactériologie, parasitologie)

Mme Catherine BELLOC – Maître de conférence, Oniris Nantes (médecine des animaux d'élevage - monogastriques)

M. Alain BOISSY – Directeur de recherche, INRA Centre-Auvergne-Rhône-Alpes (éthologie, bien-être animal, ruminants, physiologie, zootechnie)

M. Jordi CASAL – Professeur, Université Barcelone (zoonoses, épidémiologie quantitative, maladies animales exotiques, AQR)

M. Christophe CHARTIER – Professeur, Oniris Nantes (parasitologie, techniques d'élevage, petits ruminants, épidémiologie)

M. Eric COLLIN – Vétérinaire praticien (pathologie des ruminants)

M. Frédéric DELBAC – Directeur adjoint UMR 6023, Université Blaise Pascal (abeilles, épidémiologie, parasitologie, microbiologie)

M. Christian DUCROT – Directeur de Recherche Unité d'Épidémiologie Animale, INRA Centre-Auvergne-Rhône-Alpes (épidémiologie quantitative, prion, antibiorésistance, écopathologie)

Mme Barbara DUFOUR – Professeur, ENV Alfort (maladies contagieuses, épidémiologie générale, évaluation de risques qualitative)

- M. Guillaume FOURNIÉ – Enseignant chercheur, Royal Veterinary College (évaluation des risques quantitative et qualitative, modélisation, épidémiologie)
- M. Jean-Pierre GANIÈRE – Professeur émérite, Oniris Nantes (maladies contagieuses, règlementation, zoonoses)
- M. Dominique GAUTHIER – Directeur, Laboratoire départemental d'Analyses des Hautes Alpes (laboratoire, faune sauvage, méthodes diagnostiques)
- M. Etienne GIRAUD – Chargé de recherche, INRA Centre-Val de Loire (antibiorésistance, environnement, approche globale de la santé animale)
- M. Jacques GODFROID – Professeur, Université Arctique de Norvège (évaluation des risques, zoonoses, épidémiologie, bactériologie, faune sauvage marine)
- M. Jean-Luc GUERIN – Professeur, ENV Toulouse (pathologie des volailles et lagomorphes, immunologie, virologie, zoonoses et santé publique)
- M. Jean GUILLOTIN – Directeur, Laboratoire départemental d'Analyses du Nord (diagnostic de laboratoire, infectiologie)
- Mme Nadia HADDAD – Professeur, Directrice adjointe de l'UMR BIPAR, ENV Alfort (microbiologie, épidémiologie, maladies contagieuses)
- M. Jean HARS – Unité sanitaire de la faune – maladies transmissibles, Office national de la chasse et de la faune sauvage (pathologie de la faune sauvage libre, épidémiologie)
- Mme Véronique JESTIN – Ex-directrice de recherche et ex-responsable d'unité et du Laboratoire National de Référence Influenza aviaire, Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané (virologie, infectiologie, pathologie aviaire, vaccinologie, méthodes de diagnostic, parasitologie aviaire, analyse de risque, franchissement de la barrière d'espèce)
- Mme Elsa JOURDAIN – Chargée de Recherche, INRA Centre-Auvergne-Rhône-Alpes (zoonoses, épidémiologie quantitative, faune sauvage)
- Mme Claire LAUGIER – Directrice, Laboratoire de pathologie équine, Anses Dozulé (pathologie équine, diagnostic de laboratoire)
- Mme Monique L'HOSTIS – Professeur, Oniris Nantes (parasitologie, pathologie des abeilles, faune sauvage)
- Mme Coralie LUPO – Chercheur épidémiologiste, IFREMER (épidémiologie, pathologie aviaire, pathologie des mollusques)
- M. Gilles MEYER – Professeur, ENV Toulouse (pathologie des ruminants, virologie)
- M. Pierre MORMÈDE – Chercheur, INRA - Centre de Recherches de Centre Toulouse Midi-Pyrénées (génétique du stress, endocrinologie, bien-être animal)
- Mme Carine PARAUD – Responsable secteur parasitologie, Anses Niort (statistiques, pathologie des petits ruminants, parasitologie)
- Mme Claire PONSART – Chef d'Unité, Unité zoonoses bactériennes, Laboratoire de santé animale, Anses Maisons-Alfort (épidémiologie, bactériologie, statistiques, virologie, pathologie de la reproduction)
- Mme Nathalie RUVOEN – Enseignant chercheur, Oniris Nantes (maladies contagieuses, zoonoses, règlementation)
- M. Claude SAEGERMAN – Professeur, Faculté de médecine vétérinaire de Liège (épidémiologie, maladies contagieuses, maladies émergentes)

M. Stéphan ZIENTARA – Directeur UMR Virologie, Anses Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort (virologie)

## **Participation Anses**

### Coordination scientifique

Mme Claire HAUTEFEUILLE – Coordinatrice d'expertise scientifique – Anses

Mme Charlotte DUNOYER – Chef de l'unité Evaluation des risques liés à la Santé, à l'Alimentation et au Bien-être des animaux – Anses

### Secrétariat administratif

M. Régis MOLINET – Anses

Audition de personnalités extérieures :

Un vétérinaire consultant pour des coopératives avicoles

Hendrix-Genetics (1 rue Jean Rostand, 22440 Ploufragan)

M. Gérard LEVEQUE - directeur technique en charge, entre autre, de tous les programmes sanitaires et de la direction du laboratoire

Mme Elise CHASSEIGNAUX - responsable des laboratoires vétérinaires du groupe

Hubbard-Breeders (Mauguerand, Le foeil, 22800 Quintin)

M. Eric BONJOUR - directeur technique et vétérinaire

Le Directeur général

---

## **Demande d'avis relatif à l'amélioration des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture, notamment en matière de dépistage**

**Questions liées à la diminution des taux de confirmation dans les différentes filières**

**Demande « 2015-SA-0088 »**

### **RAPPORT d'appui scientifique et technique**

**ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE ET BIBLIOGRAPHIQUE**

**Juin 2016**

**Mots**

**clés**

---

Salmonella, volaille, dépistage, plan de lutte officiel

**Rapport** : Juin 2016 • version : 6

## Présentation des intervenants

### **PARTICIPATION ANSES**

---

#### **Coordination scientifique**

Dr Marianne Chemaly – Chef d'unité Hygiène des Produits Avicoles et Porcin – Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané

#### **Rédaction scientifique**

Adeline Huneau-Salaün, Ingénieur d'études, Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané.

#### **Contribution scientifique**

Dr Sophie Le Bouquin, Inspecteur de Santé Publique Vétérinaire, Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané.

Dr Gilles Salvat, Directeur de la Santé Animale, Anses.

Dr Laëtitia Bonifait, Responsable du Laboratoire National de Référence pour les salmonelloses aviaires, Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané.

Dr Pierre Maris, Directeur adjoint et référent Biocide, Anses Laboratoire de Fougères

Dr Brigitte Roudaut, Adjointe au Directeur, Responsable du LNR Résidus de médicaments vétérinaires, Anses Laboratoire de Fougères

Françoise Lalande, technicienne, Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané.

Dr Cintia Minafra, Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané.

### **AUDITION DE PERSONNALITES EXTERIEURES**

---

#### **LABOCEA (22)**

Dr Hervé Morvan – Chef du service de bactériologie vétérinaire

#### **TREGOBIO-FINALAB (22)**

Dr Dominique Blivet – Directrice adjointe

### **CONTRIBUTIONS EXTERIEURES A L'AGENCE**

---

*Bureau Santé Animale, Sous-Direction de la Santé et de la Protection Animales, Service des actions sanitaire en production primaire, Direction Générale de l'Alimentation :*

- *Résultats des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture par filière et par étage de production en France en 2012, 2013 et 2014 ;*

- *Données extraites de SIGAL : actes de police sanitaire menés dans le cadre de l'application des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture en France en 2014 ;*

- *Données extraites de SIGAL : signalements des absences de pousse sur prélèvements de dépistage obligatoire, officiel et prélèvements de confirmation en France en 2014.*

## SOMMAIRE

<b>Présentation des intervenants .....</b>	<b>28</b>
<b>Synthèse .....</b>	<b>31</b>
<b>Sigles et abréviations.....</b>	<b>33</b>
<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>33</b>
<b>1 Contexte, objet et modalités de traitement de la demande .....</b>	<b>34</b>
<b>1.1. Contexte de la demande .....</b>	<b>34</b>
<b>1.2. Objet de la demande .....</b>	<b>34</b>
<b>1.3. Cadrage de la demande .....</b>	<b>34</b>
1.3.1. Intitulés des questions à instruire et périmètre	34
1.3.2. Eléments complémentaires obtenus	35
<b>1.4. Modalités de traitement de la demande .....</b>	<b>35</b>
<b>2 Evolution des taux de confirmation par filière depuis 2012 .....</b>	<b>36</b>
<b>2.1. Rappels réglementaires sur la confirmation .....</b>	<b>36</b>
<b>2.2. Définition du taux de confirmation.....</b>	<b>37</b>
<b>2.3. Evolution sur 2012-2014.....</b>	<b>37</b>
<b>2.4. Analyse des actes de confirmation en 2014 .....</b>	<b>38</b>
<b>3. Facteurs influençant la confirmation d'infection .....</b>	<b>39</b>
<b>3.1. Origine de la suspicion .....</b>	<b>39</b>
<b>3.2. Facteurs épidémiologiques influençant la confirmation .....</b>	<b>39</b>
3.2.1. Vaccination	39
3.2.2. Sérovars impliqués et leur excrétion	39
3.2.3. Prévalence intra-troupeau	40
3.2.4. Mode de logement des troupeaux de poules	40
<b>3.3. Conditions de réalisation des prélèvements de confirmation.....</b>	<b>41</b>
<b>3.4. Conditions d'analyses.....</b>	<b>42</b>
<b>3.5. Présence d'agents potentiellement interférant avec la confirmation .....</b>	<b>43</b>
3.5.1. Flores de barrière	43
3.5.2. Traitements antibiotiques	44
3.5.3. Désinfectants	44
3.5.4. Produits de traitement de la litière	45
<b>3.6. Hiérarchisation des facteurs influençant la confirmation d'infection.....</b>	<b>45</b>
<b>3.7. Etude complémentaire sur les facteurs influençant la confirmation d'infection .....</b>	<b>45</b>
<b>4. Mise en évidence des agents potentiellement interférant avec le dépistage.....</b>	<b>46</b>

4.1. Indicateur indirect de l'utilisation d'agent interférant : l'absence de pousse .....	46
4.2. Mise évidence de l'utilisation de flore de barrière .....	46
4.3. Mise en évidence de l'utilisation d'un traitement antibiotique .....	46
4.4. Mise en évidence de l'utilisation d'un produit désinfectant .....	47
4.5. Mise en évidence de l'utilisation d'un produit de traitement de la litière .....	47
5. Conclusions .....	47
6. Recommandations .....	48
6.1. Recommandations relatives aux conditions épidémiologiques à considérer pour justifier une confirmation d'infection .....	48
6.2. Recommandations relatives à la réalisation des prélèvements de confirmation .....	49
6.3. Recommandations relatives à l'amélioration de la surveillance épidémiologique .....	50
7 Bibliographie .....	50
7.1. Publications .....	50
7.2. Sites internet commerciaux consultés .....	52
7.3. Normes .....	53
7.4. Législation et réglementation .....	53
ANNEXE 1 .....	56
ANNEXE 2 .....	61
ANNEXE 3 .....	66

## Synthèse

L'Anses a été saisie le 17/04/2015 par la Direction Générale de l'Alimentation - Bureau de la Santé Animale - pour la réalisation de l'appui scientifique et technique suivant : 2015-SA-0088 - Demande d'avis relatif à l'amélioration des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture, notamment en matière de dépistage. Le présent rapport a pour objectif de répondre à la première partie de l'AST portant sur la « diminution du taux de confirmation [d'infection à salmonelles] dans les filières avicoles ».

Les plans de lutte officiels contre les salmonelloses dans les troupeaux avicoles organisent le dépistage des troupeaux infectés par les sérotypes de salmonelles réglementées sous forme de contrôles bactériologiques réalisés périodiquement dans les élevages. Un premier dépistage positif est confirmé lors d'une ou deux séries de prélèvements réalisés par la DDecPP à l'élevage. Sur la base des résultats de confirmation obtenus entre 2012 et 2014 dans les troupeaux de volailles soumis à la surveillance, il est difficile de qualifier l'évolution du taux de confirmation des suspicions d'infection, sauf dans les troupeaux de poudeuses où une baisse est confirmée statistiquement. Néanmoins l'absence de confirmation d'infection demeure régulière dans les troupeaux de volailles suspects.

Le résultat d'une confirmation d'infection salmonellique dépend de la situation épidémiologique de l'élevage et de la réalisation de l'acte de confirmation en lui-même. La confirmation est pratiquée dans deux situations épidémiologiques distinctes : à la suite soit d'un dépistage positif sur le troupeau suspect, soit de l'identification d'un lien épidémiologique entre ce troupeau et un cas avéré d'infection salmonellique. La confirmation d'une suspicion sur lien épidémiologique est nécessaire pour apporter des informations indispensables à l'identification de l'origine d'un foyer et à la gestion opérationnelle du cas index d'infection.

Dans le cas d'une confirmation suite à un dépistage positif, le ré-isolement de la bactérie peut être rendu difficile par une faible prévalence de l'excrétion salmonellique dans les troupeaux infectés (notamment ceux vaccinés), comme décrite dans des observations épidémiologiques de terrain. L'utilisation d'agents potentiellement interférant avec le dépistage ne peut être non plus exclue : des éléments existent pour considérer que les antibiotiques, les désinfectants, les traitements acidifiant, alcalinisant et asséchant des litières et les flores de barrières orales interfèreraient avec la confirmation d'infection. Bien qu'il soit difficile de prouver l'utilisation de ces agents, la survenue d'absence de pousse sur prélèvement de confirmation est un résultat anormal qui est un indicateur indirect de l'utilisation volontaire ou involontaire d'un agent interférant. Elle justifierait *a minima* la réalisation de nouveaux prélèvements de confirmation. Une harmonisation et une systématisation de la déclaration des absences de pousse sur la totalité du réseau de laboratoires agréés et reconnus seraient nécessaires pour assurer le suivi épidémiologique de cet indicateur.

Les plans minimaux d'échantillonnage prévus dans les arrêtés de lutte permettent, selon l'état actuel des connaissances, d'assurer une sensibilité élevée du protocole de confirmation. Un strict respect de ces plans et une prise en compte attentive des informations épidémiologiques disponibles pour adapter le protocole à des situations rendant le dépistage plus compliqué amélioreraient la sensibilité de la confirmation. De plus, l'exploitation des données commémoratives des prélèvements de dépistage et de confirmation permettrait de mieux documenter la situation épidémiologique des troupeaux de volailles vis-à-vis des salmonelloses réglementées, de poursuivre l'analyse des facteurs pouvant influencer le taux de confirmation d'infection et de contribuer à l'évaluation du système de surveillance actuel. Ce travail d'exploitation des commémoratifs est nécessaire afin de juger de l'opportunité de proposer et de tester de nouveaux protocoles de confirmation de l'infection.

En réponse à la demande concernant les facteurs justifiant le recours à la confirmation d'un dépistage positif, il a été estimé que plusieurs critères épidémiologiques pourraient être pris en compte : i. les historiques salmonelliques du troupeau et du bâtiment hébergeant le troupeau, ii. le nombre de prélèvements positifs lors du dépistage à l'origine de la suspicion, afin d'assurer une gestion du risque proportionnée à l'intensité de la suspicion, iii. le respect de la charte sanitaire pour le troupeau suspect. La mise en œuvre de prélèvements de confirmation devrait s'accompagner d'un engagement du détenteur des animaux à n'utiliser aucun produit ou moyen susceptibles d'altérer la sensibilité du dépistage. Une meilleure traçabilité de l'usage de ces produits pourrait être obtenue par une inscription obligatoire de leur utilisation dans le registre d'élevage.

## **Sigles et abréviations**

APMS : Arrêté Préfectoral de Mise sous Surveillance

APDI : Arrêté Préfectoral de Déclaration d'Infection

AST : Appui Scientifique et Technique

DDecPP : Direction Départementale en charge de la Protection des Populations

DGAL : Direction Générale de l'Alimentation

TIAC : Toxi-Infection Alimentaire Collective

## **Liste des tableaux**

Tableau 1 : Nombres d'APMS, d'APDI et taux de confirmation apparent dans la filière œufs de consommation en France entre 2012 et 2014 (source : DGAL, juin 2015) \_\_\_\_\_ 37

Tableau 2 : Nombres d'APMS, d'APDI et taux de confirmation apparent dans la filière volailles de chair (poulet et dinde) en France entre 2012 et 2014 (source : DGAL, juin 2015) \_\_\_\_\_ 37

L'Anses a été saisie le 17/04/2015 par la Direction Générale de l'Alimentation - Bureau de la Santé Animale - pour la réalisation de l'appui scientifique et technique suivant : 2015-SA-0088 - Demande d'avis relatif à l'amélioration des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture, notamment en matière de dépistage.

## **1. Contexte, objet et modalités de traitement de la demande**

### **1.1. Contexte de la demande**

Le règlement (CE) N°2160/2003 du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 impose aux Etats membres la mise en place d'un plan de maîtrise de certains sérotypes de salmonelles, assorti de mesures de gestion, dans la chaîne alimentaire. Dans le cas des filières avicoles en France, des plans de lutte sous formes d'arrêtés ont donc été successivement mis en place depuis 2008 aux étages sélection, reproduction et production pour les productions d'œufs de consommation et de viande de poulet et de dinde. Le 13 avril 2015, la Direction Générale de l'Alimentation a adressé une saisine à l'Anses, requalifiée par la suite en demande d'appui scientifique et technique (AST), relative à l'amélioration des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture (2015-SA-0088). Cette demande s'inscrit dans la révision des arrêtés de lutte en cours et fait suite à un audit de l'Office Alimentaire et Vétérinaire en 2013 (DG(SANCO) 2013-6689).

### **1.2. Objet de la demande**

La demande d'AST a été découpée en deux parties par le Demandeur. Le présent rapport a pour objectif de répondre à la première partie de l'AST portant sur la « diminution du taux de confirmation [d'infection à salmonelles] dans les filières avicoles ».

### **1.3. Cadrage de la demande**

#### **1.3.1. Intitulés des questions à instruire et périmètre**

Le champ de l'AST est limité aux infections salmonelliques des troupeaux de volailles par les sérotypes dits réglementés, à savoir *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Hadar, *Salmonella* Infantis, *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Virchow pour les volailles de reproduction et *Salmonella* Enteritidis et *Salmonella* Typhimurium aux étages de production. Depuis 2015, *S. Kentucky* résistant à la ciprofloxacine a été ajoutée à la liste des dangers sanitaires de 1<sup>ère</sup> catégorie. La situation épidémiologique de ce sérotype est différente des autres sérotypes réglementés, qui sont endémiques, alors que *S. Kentucky* est actuellement absente des troupeaux de volailles français. Les plans de lutte sont maintenant étendus à ce sérotype bien que l'objectif dans ce cas particulier soit de prévenir son émergence et non d'en contrôler la prévalence.

Comme indiqué dans le préambule de la saisine, il est demandé de traiter le cas des suspicions suite à un dépistage positif sur le troupeau et le cas des suspicions établies indépendamment du dépistage, c'est-à-dire les suspicions sur lien épidémiologique avec une infection avérée, une alerte au couvoir ou une Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC). La demande de la partie 1 a été découpée en trois questions par le demandeur :

- Identifier les origines les plus probables de baisse des taux de confirmation et leurs interactions potentielles. Le demandeur propose de traiter ce point en deux étapes :
  - De caractériser le phénomène de baisse pour la période précisée de 2012 à 2014 en France pour les filières *Gallus gallus* œuf de consommation, *Gallus gallus* viande et *Meleagris gallopavo* viande, à l'exclusion de l'étage production de ces 2 dernières filières où la confirmation d'infection n'est pas une pratique systématique. Cette caractérisation comprend *a minima* l'analyse des données de suspicion et de confirmation extraites de SIGAL en 2014.

- Dans un second temps, si l'analyse des données disponibles ne permet pas de conclure sur les origines de la baisse du taux de confirmation, proposer et mettre en œuvre un protocole de prélèvement et d'analyse pour les prélèvements de confirmation durant une période suffisante, à définir. Compte tenu du délai de réponse fixé au début 2016 pour la 1<sup>ère</sup> partie de l'AST, il a été précisé au demandeur dès la réception de la saisine qu'une étude complémentaire ne pourrait pas être mise en œuvre dans le délai imparti pour répondre.
- Décrire les effets, notamment en terme de relations doses/effets, d'agents interférants avec le dépistage des salmonelles à l'élevage. La liste des agents à étudier est à transmettre par la DGAI. Dans le traitement de la saisine, et dans l'attente d'éléments confirmant l'action réelle de ces agents sur les salmonelles, il est proposé de requalifier ces produits ou procédés en « agents potentiellement interférants » avec le dépistage. De plus, cette question étant soulevée dans le cadre des actes de confirmation, l'étude est circonscrite aux agents pouvant interférer avec la confirmation d'infection et non le dépistage en général, et aux agents et procédés potentiellement mis en œuvre à l'élevage, à l'exclusion de ceux qui seraient utilisés à d'autres étages de la production. Parmi les effets potentiels, il est demandé de s'intéresser plus spécifiquement aux absences de pousse, définies par l'ADILVA<sup>8</sup> et l'AFLABV<sup>9</sup> comme étant « l'observation d'un milieu d'enrichissement anormalement clair et/ou l'absence de cultures sur milieu sélectif ». Des moyens indiquant l'emploi des agents potentiellement interférants sont à proposer pour les divers agents à étudier.
- Définir les conditions justifiant la réalisation de prélèvements de confirmation après une première positivité.

### **1.3.2. Éléments complémentaires obtenus**

Des éléments sous contrôle du demandeur ont été nécessaires à la conduite de l'appui :

- 1/ Transmission des données relatives aux actes de police sanitaire réalisés dans le cadre des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture en 2014,
- 2/ Transmission des données relatives aux absences de pousse sur dépistage et sur confirmation renseignées dans SIGAL en 2014,
- 3/ Transmission d'une liste des types de produits potentiellement interférants sur le dépistage des salmonelles à instruire dans le cadre de l'AST.

Une demande relative à la transmission des données descriptives des actes de police sanitaire réalisés en 2012 et 2013 a été faite lors d'une réunion de travail avec le Bureau de la santé animale le 18 septembre 2015. Les données synthétiques en termes de nombres d'actes par filières et étages ont été transmises mais aucun élément descriptif complémentaire n'a été fourni.

### **1.4. Modalités de traitement de la demande**

La première sous-question relative aux origines probables de la baisse des taux de confirmation a été abordée en caractérisant cette baisse au moyen de la comparaison des taux de confirmation par filière et par étage en 2012, 2013 et 2014, sur la base des résultats transmis par le Bureau de la santé animale. Une analyse plus précise des actes de confirmation a été menée pour l'année 2014 grâce aux données extraites de SIGAL et

<sup>8</sup> Association française des Directeurs et cadres de Laboratoires Vétérinaires publics d'Analyses

<sup>9</sup> Association Française des Laboratoires d'Analyses de Biologie Vétérinaires

transmises par le Bureau de la santé animale. Une fois l'évolution du taux de confirmation décrite par filière sur la période donnée, une liste des origines possibles de non confirmation d'une suspicion d'infection a été dressée et discutée aux regards des éléments épidémiologiques français disponibles et d'éléments bibliographiques récents obtenus dans l'Union Européenne. L'importance relative de chaque origine étudiée et leurs interactions potentielles ont été discutées et la nécessité d'une enquête complémentaire discutée.

La deuxième sous-question sur les effets de l'utilisation d'agents potentiellement interférants avec le dépistage a été circonscrite à une liste de produits établie lors d'une réunion de travail avec le Bureau de la santé animale le 18 septembre 2015. Pour chaque agent, leur mécanisme d'action sur la sensibilité des prélèvements de confirmation a été décrit sur la base d'éléments bibliographiques, de la consultation de documents techniques édités par les fournisseurs de ces produits et de la réglementation. La possibilité de mise en évidence de ces produits a été étudiée en se référant à des informations bibliographiques et à des avis d'experts du Laboratoire National de Référence sur les résidus de médicaments vétérinaires et du Laboratoire de l'Anses Fougères. Une étude plus particulière des cas d'absence de pousse sur les prélèvements de dépistage salmonellique en 2014 a été menée afin de décrire l'occurrence de cet indicateur possible de l'utilisation de procédés ou d'agents potentiellement interférants avec la confirmation.

La troisième sous-question sur les conditions pouvant justifier la réalisation de prélèvements de confirmation a été traitée à la vue de l'ensemble des éléments recueillis en réponse aux questions précédentes. Les avis des différentes parties prenantes, la DGAI et les représentants syndicaux des filières avicoles, ont été entendus lors de deux réunions de travail sur la révision des plans de lutte officiels auxquelles les scientifiques traitant l'AST ont été conviés les 14 avril et 24 septembre 2015. La réponse à cette question prend la forme de recommandations sur les conditions épidémiologiques à considérer pour la justification du recours à la confirmation d'infection et des recommandations sur la mise en œuvre des actes de confirmation.

Le produit de l'AST prend la forme du présent rapport.

## **2. Evolution des taux de confirmation par filière depuis 2012**

### **2.1. Rappels réglementaires sur la confirmation**

Les plans de lutte officiels organisent le dépistage et l'élimination des troupeaux infectés par les sérotypes de salmonelles réglementées. Le dépistage repose d'une part sur des prélèvements obligatoires réalisés selon une périodicité définie par les arrêtés et qui sont à l'initiative de l'exploitant. D'autre part, il comprend aussi des prélèvements officiels complémentaires réalisés par les agents DDecPP selon un plan de sondage défini dans le plan de lutte national. Les arrêtés prévoient que les troupeaux suspectés d'infection, suite à un dépistage positif ou à un lien épidémiologique avec un cas de contamination avérée, soient placés sous Arrêté Préfectoral de Mise sous Surveillance (APMS). La suspicion d'infection est alors confirmée lors d'une ou deux séries de prélèvements de confirmation réalisés par la DDecPP à l'élevage. Un second résultat positif entraîne la mise sous Arrêté Préfectoral de Déclaration d'Infection (APDI) du troupeau; l'absence de confirmation de l'infection amène la levée de l'APMS. La possibilité de prévoir des prélèvements de confirmation d'infection pour les reproducteurs et les pondeuses dans les plans nationaux de lutte est donnée par les règlements européens 2160/2003, 1237/2007, 200/2010 et 517/2011. La confirmation a pour but « d'éliminer des résultats initiaux [de dépistage] faussement positifs ». Les critères de suspicion d'un résultat faussement positif ouvrant la possibilité de recours aux prélèvements de confirmation doivent être précisés dans les programmes de lutte nationaux. La confirmation n'est pas un acte systématique.

## 2.2. Définition du taux de confirmation

Le taux de confirmation de l'infection est défini comme le rapport du nombre d'APDI sur le nombre d'APMS pris sur une période et un territoire donnés. On peut définir un taux de confirmation apparent qui est le rapport brut du nombre d'APDI sur le nombre d'APMS, ne tenant pas compte de la nature de l'APDI. Or certaines situations définies par les arrêtés de lutte entraînent la prise directe de l'APDI, sans APMS préalable. Dans ce cas, il n'y a pas de confirmation. Un calcul plus juste du taux de confirmation (TC) consiste donc à ne considérer que le nombre d'APDI pris après confirmation, lorsque l'information est disponible.

## 2.3. Evolution sur 2012-2014

Les éléments transmis par la DGAI sur les APMS et APDI en France entre 2012 et 2014 sont présentés dans les tableaux 1 et 2 pour les filières œufs de consommation et volailles de chair. La notion de confirmation n'existe normalement pas pour les troupeaux de volailles de chair en production qui sont simplement placés sous APMS. Les TC sont présentés sous forme de rapport et non de pourcentage lorsque le nombre d'actes pratiqués est inférieur à 20. En l'absence d'information complémentaire sur la nature des APDI pris en 2012 et 2013, seul un TC apparent peut être calculé.

**Tableau 1 : Nombres d'APMS, d'APDI et taux de confirmation apparent dans la filière œufs de consommation en France entre 2012 et 2014 (source : DGAL, juin 2015)**

	Etage Stade	Sélection		Multiplication		Production	
		FP <sup>a</sup>	Ponte	FP	Ponte	FP	Ponte
2012	APMS	0	0	0	1	10	95
	APDI	0	0	0	0	3	68
	TC apparent	0/0	0/0	0/0	0/1	3/10	71%
2013	APMS	2	0	2	2	7	70
	APDI	0	0	2	0	5	31
	TC apparent	0/2	0/0	2/2	0/2	5/7	44%
2014	APMS	0	0	0	7	22	81
	APDI	0	0	0	0	13	58 (44) <sup>b</sup>
	TC apparent	0/0	0/0	0/0	0/7	59%	72%
	TC réel					59%	54%

<sup>a</sup>Futures Pondeuses, <sup>b</sup>Nombre d'APDI pris après un APMS

**Tableau 2 : Nombres d'APMS, d'APDI et taux de confirmation apparent dans la filière volailles de chair (poulet et dinde) en France entre 2012 et 2014 (source : DGAL, juin 2015)**

	Etage Stade	Race pure		Sélection		Multiplication		Production
		F Repro <sup>a</sup>	Repro <sup>b</sup>	F Repro	Repro	F Repro	Repro	
2012	APMS	1	0	1	2	6	7	364
	APDI	0	0	1	2	6	0	8
	TC apparent	0/1	0/0	1/1	2/2	6/6	0/7	/
2013	APMS	0	0	0	0	5	21	455
	APDI	0	0	0	0	4	2	9
	TC apparent	0/0	0/0	0/0	0/0	4/5	10 %	/
2014	APMS	0	0	0	0	15	44	489
	APDI	0	0	0	0	4	11(9) <sup>c</sup>	6
	TC apparent	0/0	0/0	0/0	0/0	4/15	25%	/
	TC réel					4/15	20%	

<sup>a</sup>Futurs Reproducteurs <sup>b</sup>Reproducteurs, <sup>c</sup>Nombre d'APDI après un APMS

Les suspicions et les infections, qui sont très rares aux étages de sélection chair et sélection multiplication ponte, ne permettent pas d'analyser une éventuelle évolution temporelle du TC sur la période. En multiplication chair, le taux de confirmation des suspicions est bas (10 à 20%), surtout chez les reproducteurs, mais il est difficile d'en évaluer l'évolution à cause des

variations annuelles importantes sur de petits effectifs. En production d'œufs de consommation, le taux de confirmation apparaît également très variable selon les années. Si on s'intéresse uniquement aux troupeaux de pondeuses, le taux de confirmation est significativement plus faible en 2013 (31/70,  $P=0,001$ ) qu'en 2012 (68/95). Pour 2014, le taux de confirmation apparent est similaire à celui de 2012 mais si on prend le taux de confirmation réel (54%), il est significativement inférieur au taux de confirmation apparent de 2012 (71%,  $P=0,02$ ).

On ne peut donc conclure avec certitude quant à une baisse du taux de confirmation pour la plupart des étages de production des deux filières avicoles entre 2012 et 2014, sauf pour les pondeuses où cette baisse est confirmée statistiquement. On peut néanmoins remarquer que les absences de confirmation d'une suspicion sont des événements fréquents et s'interroger sur leurs origines possibles et notamment sur l'efficacité du protocole de confirmation.

#### **2.4. Analyse des actes de confirmation en 2014**

Conformément à la demande d'AST, une analyse des résultats des actes d'APMS et APDI a été réalisée pour l'année 2014 afin d'identifier des facteurs pouvant influencer le taux de confirmation d'une infection (Annexe 2).

En 2014, 176 APMS ont été pris suite à un résultat positif lors d'un dépistage (obligatoire ou officiel) ou à cause d'un lien épidémiologique établi avec une infection (sur troupeau, au couvoir, TIAC). Les origines de ces suspicions sont un dépistage obligatoire ou officiel (113 APMS, 64%), un lien épidémiologique avec un cas d'infection avéré (33 APMS, 19%), une alerte au couvoir (19 APMS, 11%) ou une TIAC (3 APMS) ; les autres APMS (8) ont des origines très diverses. Le taux de confirmation varie en fonction de l'origine de l'APMS puisque 51% des APMS sur dépistage positif ont été confirmés contre 30% des suspicions justifiées par un lien épidémiologique et 5% des APMS sur alerte au couvoir.

Pour les suspicions suites à un dépistage obligatoire ou officiel positif, l'analyse des informations reportées dans SIGAL a permis de montrer que :

- La fréquence de confirmation est proche quel que soit le sérovar à l'origine de la suspicion (S.E, S.T ou S.T i :-).
- Le taux de confirmation semble plus élevé suite à un dépistage officiel (17/29, 59%) qu'à un dépistage obligatoire (37/76, 49%) mais la différence n'est pas significative du point de vue statistique.
- La fréquence de confirmation n'est pas significativement différente pour les troupeaux de poulettes (10/19, 53%), de pondeuses (31/62, 50%) et de reproducteurs chair (6/14, 43%). Pour les étages supérieurs des filières, le nombre faible de suspicions ne permet pas de conclure.
- La fréquence de confirmation n'est pas corrélée statistiquement avec le nombre de prélèvements de confirmation effectués, leur nombre variant très fortement de 2 à 24 selon les situations.
- Pédichiffonnettes et chiffonnettes sont des prélèvements complémentaires pour améliorer le taux de confirmation des suspicions.
- La suspicion est plus fréquemment confirmée quand plusieurs prélèvements étaient positifs lors du dépistage (21/25, 84%) que lorsqu'un seul échantillon était positif (32/79, 40%).
- 85% des APDI ont été pris avec une seule série de prélèvements de confirmation et 15% ont nécessité deux séries pour confirmer l'infection.

### 3. Facteurs influençant la confirmation d'infection

#### 3.1. Origine de la suspicion

Il a été rappelé au point 2.4 que le TC varie en fonction de l'origine de l'APMS, les suspicions suites à un dépistage positif étant plus fréquemment confirmées que les APMS pris sur la base d'éléments épidémiologiques indirects (lien épidémiologique avec cas avéré, TIAC, alerte couvoir). Les APMS justifiés par des éléments épidémiologiques indirects permettent la mise sous surveillance de troupeaux suspects non détectés par le dépistage obligatoire. Bien que ces APMS entraînent des prélèvements dits de « confirmation » dans les arrêtés de lutte, il s'agit plutôt de prélèvements de dépistage complémentaire ciblé sur un troupeau suspect. Ils sont indispensables pour mieux comprendre l'origine d'une TIAC ou d'une contamination au couvoir et pour gérer opérationnellement des foyers d'infection.

Contrairement aux cas évoqués ci-dessus, la confirmation après un dépistage positif sur troupeau à l'élevage survient dans un contexte où la salmonelle est connue pour avoir été présente à un instant donné dans le troupeau suspect ou son environnement. Le recours à une confirmation introduit alors le risque d'absence de confirmation, dont il convient d'analyser les origines possibles. La non confirmation peut être liée i) à des éléments épidémiologiques spécifiques, et/ou ii) aux conditions de confirmation de l'infection (échantillonnage, réalisation), détaillés ci-après.

#### 3.2. Facteurs épidémiologiques influençant la confirmation

##### 3.2.1. Vaccination

Le but de la vaccination des volailles contre les salmonelles est de limiter l'invasion des organes par les sérovars visés et de limiter leur excrétion par les volailles infectées (EFSA, 2005). En France, la vaccination est autorisée sous conditions par les plans de lutte pour les troupeaux de reproducteurs en multiplication des filières chair et dinde (vaccins inactivés uniquement) et les troupeaux de pondeuses et futures pondeuses. La vaccination peut interférer à deux niveaux avec le dépistage et la confirmation des infections salmonelliques :

- Les vaccins vivants autorisés dans l'Union Européenne doivent être facilement différenciables en bactériologie des salmonelles « sauvages » afin de ne pas interférer avec le dépistage des troupeaux infectés. Les vaccins vivants autorisés sur dérogation pour les pondeuses en France répondent à cette exigence.
- Le dépistage bactériologique d'une infection dans un troupeau vacciné peut être plus difficile car le vaccin a pour but de limiter l'excrétion de la bactérie. Il convient donc d'augmenter le nombre de prélèvements de confirmation pour les troupeaux vaccinés, possibilité ouverte par les arrêtés de lutte.

La vaccination est soumise à prescription vétérinaire et est enregistrée dans le registre d'élevage. En 2014, les informations disponibles dans SIGAL ne rendent que partiellement compte du statut vaccinal des troupeaux placés sous APMS. Sur les troupeaux de pondeuses pour lesquels la donnée est disponible, on constate que 6 suspicions sur 16 ont été confirmées dans les cheptels vaccinés (37%), ce qui n'est pas significativement différent du taux de confirmation sur les troupeaux non vaccinés (15/33, 45%). Le nombre de prélèvements de la première série de confirmation est comparable quel que soit le statut vaccinal du troupeau ; il n'y a pas d'adaptation spécifique du plan de confirmation pour les cheptels vaccinés.

##### 3.2.2. Sérovars impliqués et leur excrétion

Les résultats 2014 ne montrent pas d'impact significatif du sérotype sur le TC. Expérimentalement, il existe quelques études montrant des différences dans l'excrétion des salmonelles selon le sérotype impliqué, les données les plus importantes concernant S.E et S.T : les infections expérimentales avec S.T semblent provoquer une excrétion fécale moins persistante dans le temps que S.E (Wales et Davies, 2011). Néanmoins, les auteurs de cette

synthèse bibliographique concluent à l'absence d'élément corroborant une réelle différence de comportement de ces sérotypes en conditions naturelles d'infection. Depuis 2010, on observe en France, comme dans le reste de l'Union Européenne (EFSA, 2010), l'émergence de variants S.T monophasiques. Une étude expérimentale (Martelli *et al.*, 2014) a montré que ces variants sont excrétés de façon similaire à S.T chez des poulettes prêtes à pondre. L'ensemble de ces éléments tendent à montrer qu'il ne serait pas nécessaire d'adapter le protocole de confirmation au sérotype suspecté.

Le cas de S. Kentucky est à considérer séparément. L'objectif des plans de lutte pour ce sérotype est d'en prévenir l'émergence puisqu'il est actuellement absent des troupeaux de volailles français. Dans ce contexte spécifique, la détection de ce sérotype lors d'un dépistage nécessiterait la prise immédiate de mesures de gestion adaptées afin d'éviter tout risque de dissémination à partir du cas index. L'exemple du foyer identifié dans le Morbihan en 2013 a d'ailleurs démontré l'importance de mesures rapides, le cas index ayant été à l'origine d'un foyer secondaire.

Il existe enfin des cas de contamination à plusieurs sérotypes sur un seul troupeau. Il peut s'agir de deux sérotypes réglementés (quelques cas reportés depuis 2008 dans différentes productions) ou d'un sérotype réglementé et d'un ou plusieurs sérotypes non réglementés. Il est difficile de prévoir l'évolution d'une contamination multiple dans le temps, notamment entre le moment du dépistage et de la confirmation. Une expérimentation récente de co-infection à S. Enteritidis et S. Kentucky chez la poule pondeuse a montré que l'infection des animaux par S. Enteritidis était modifiée par la présence d'un autre sérotype (Guard *et al.*, 2015). Il ne semble donc pas exclu que l'excrétion d'un sérotype puisse supplanter celle d'un autre dans le temps. De même, la sélection d'un nombre restreint de colonies pour sérotypage peut limiter la capacité de mise en évidence d'un sérotype présent en moindre concentration lors d'une contamination multiple. Ces facteurs épidémiologiques et analytiques peuvent donc entraîner l'absence de confirmation d'un sérotype réglementé auparavant isolé sans qu'il soit possible d'en estimer la fréquence de survenue. S'il y a connaissance d'une contamination multiple lors du dépistage, il pourrait être demandé au laboratoire agréé de sérotyper un plus grand nombre de colonies lors de la confirmation.

### **3.2.3. Prévalence intra-troupeau**

Lors de la confirmation d'infection, les prélèvements de fientes, de chiffonnettes sur tapis à fientes ou de pédichiffonnettes sur la litière visent prioritairement à détecter une excrétion salmonellique par les volailles. La sensibilité de ces prélèvements dépend donc de la prévalence des animaux excréteurs au sein du troupeau (Arnold *et al.*, 2010). Il existe peu de références sur la contamination intra-troupeau dans des cas d'infections naturelles en conditions de terrain. Au Royaume-Uni, une investigation sur 20 troupeaux de pondeuses contaminés a conclu que cette prévalence intra-troupeau peut varier de moins de 5% à plus de 40% (Arnold 2011). Une étude européenne sur 29 lots de pondeuses infectés dans 4 pays européens en 2009 (Van Hoorebeke *et al.*, 2009) a montré que la prévalence d'animaux excréteurs varie de 2 à 27% (troupeaux vaccinés). Sur certains de ces troupeaux, Schutz *et coll* (2011) ont observé via un suivi longitudinal une excrétion intermittente de *Salmonella* à un faible niveau mais généralement, l'infection a perduré jusqu'à l'abattage des animaux. L'intermittence de l'excrétion explique qu'il peut être difficile de confirmer une infection après un dépistage positif, justifiant donc le recours à des prélèvements d'environnement comme la poussière où la salmonelle peut persister plus longtemps (Carrique Mas *et al.*, 2008).

### **3.2.4. Mode de logement des troupeaux de pondeuses**

La période considérée dans l'AST correspond à la mise en application de la Directive 1999/74 interdisant l'utilisation de cages conventionnelles pour le logement des poules pondeuses dans l'Union Européenne. Cet interdit s'est traduit en France par le développement progressif des systèmes d'élevage alternatifs au sol ou en volière ainsi que

des cages aménagées. De premiers résultats expérimentaux ont montré l'absence d'impact du système de logement (cages aménagées et/ou volières par rapport aux cages conventionnelles) sur le risque d'excrétion salmonellique par les poules (Gast *et al.*, 2013 ; De Vylder *et al.*, 2009 ; Gast *et al.*, 2015). On constate par ailleurs qu'en 2014 (annexe 2) le TC est similaire entre les élevages de pondeuses en cages (5/10) et au sol (36/71, 51%). Il n'y a donc pas d'élément indiquant que la transition vers les cages aménagées ou des systèmes alternatifs ait eu un impact significatif sur la probabilité de confirmation des suspicions.

### 3.3. Conditions de réalisation des prélèvements de confirmation

Les prélèvements de confirmation sont réalisés par les agents DDecPP ou exceptionnellement par le vétérinaire sanitaire. Depuis les années 2000, des formations annuelles ont été réalisées par la DGAI sur les salmonelloses aviaires, permettant de former un grand nombre d'agents sur les méthodes de prélèvements. En 2013, les prélèvements de dépistage officiels réalisés par les agents DDecPP avaient une probabilité deux fois plus élevée de détecter une infection salmonellique que les prélèvements de dépistage obligatoires délégués à l'opérateur (Chasset *et al.*, 2014), montrant *a priori* que les agents DDecPP maîtrisent la réalisation des échantillons de dépistage. Une enquête récente au Royaume-Uni (Gosling *et al.*, 2014) a montré que les agents des services vétérinaires en charge des prélèvements officiels estiment rencontrer peu de difficulté dans la réalisation des échantillons sauf pour prélever des poussières, qui sont parfois en quantité insuffisante dans les élevages.

Les prélèvements (nombre, matrices, caractéristiques et localisation) à réaliser pour confirmer une suspicion d'infection sont décrits dans les arrêtés de lutte par filière et par étage, avec des précisions selon le système de logement des animaux. Ces plans d'échantillonnage sont basés sur la réglementation européenne et assure théoriquement une sensibilité de détection équivalente au prélèvement de 300 échantillons individuels caecaux ou ovariens (Davies & Carrique-Mas, 2011). Dans un grand troupeau (population considérée comme « infinie »), ce plan d'échantillonnage permet de mettre en évidence une prévalence intra-troupeau supérieure ou égale à 1% avec un risque de 5%.

Les plans d'échantillonnage de confirmation n'ont pas évolué sur la période 2012 à 2014. Il s'agit de préconisations *a minima* laissant une latitude importante à l'enquêteur pour prélever des échantillons complémentaires. Dans les faits, les échantillons prélevés sont effectivement très variables tant en nombre qu'en type de matrice (Données 2014, annexe 2). Il est donc impossible d'évaluer la sensibilité des plans d'échantillonnage de confirmation car ceux-ci sont appliqués de façon très hétérogène. Il est à noter que les préconisations en nombre et/ou en type d'échantillons pour la confirmation n'étaient pas respectées dans environ 40% des actes en 2014. Ce non-respect pourrait être lié aux faits que les confirmations sont des actes relativement rares et que les plans d'échantillonnage à suivre sont assez complexes, avec beaucoup de cas de figure décrits dans les arrêtés.

Néanmoins, plusieurs éléments peuvent être avancés sur la sensibilité de détection des différents types d'échantillon sur la base d'éléments bibliographiques ou épidémiologiques :

- En 2014, plusieurs suspicions ont été confirmées sur la base de la positivité de pédichiffonnettes seulement ou, dans une moindre mesure, de la positivité de chiffonnettes uniquement. Ces deux matrices sont donc complémentaires pour améliorer la sensibilité des prélèvements. Plus de 95% des prélèvements de 1<sup>ère</sup> confirmation comprenaient chiffonnette(s) et pédichiffonnette(s) en 2014.
- Des éléments épidémiologiques récents ont confirmé que les pools de fientes sont plus sensibles que les écouvillons cloacaux (van Hoorebeke *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2011) ou que les fientes analysées individuellement (Arnold *et al.*, 2011). La stratégie retenue pour les prélèvements de confirmation semble donc la plus adaptée.

- En France en 2005 lors de l'enquête de prévalence européenne, il a pu être démontré que les échantillons de poussière sont plus sensibles que les échantillons de fientes pour détecter l'infection des troupeaux de poudeuses en cages (Mahé *et al.*, 2008). Au sol, aucune différence de sensibilité n'a été observée entre les pédichiffonnettes de fientes et les prélèvements de poussières ; la sensibilité du protocole dépendait dans ce cas uniquement du nombre de prélèvements réalisés.
- En troupeaux de reproduction, il n'a été démontré aucune différence de sensibilité de détection que les pédichiffonnettes soient réalisées sur les zones de caillebotis ou de litière (Behnke *et al.*, 2013). Sur cette base, il ne semble donc pas justifié de cibler particulièrement les prélèvements de confirmation par pédichiffonnette sur une partie du poulailler.

### **3.4. Conditions d'analyses**

Tous les contrôles prévus dans le plan de lutte contre les infections à salmonelles doivent être faits dans un laboratoire agréé ou reconnu par la DGAI. La méthode d'analyse utilisée pour la détection des salmonelles dans l'environnement et dans les élevages avicoles est la norme française homologuée : NF U47-100 (méthode d'analyse en santé animale : Recherche par l'isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles dans l'environnement des productions animales). Cette norme a pris effet le 20 juillet 2007 et n'a pas été modifiée sur la période 2012-2014.

Dans la norme NF U47-100, la phase d'enrichissement sélectif utilise deux milieux différents : le milieu gélosé semi-solide modifié de Rappaport-Vassiliadis (MSRV) et le bouillon de Müller-Kauffmann au tétrathionate (MKTTn), incubé à 41,5°C. Si une migration est observée sur milieu MSRV, un isolement est effectué sur deux géloses sélectives. Seul le milieu gélosé xylose lysine désoxycholate (XLD) est obligatoire, le deuxième milieu sélectif est laissé au choix des laboratoires. L'isolement effectué sur un milieu sélectif solide à partir du bouillon MKTTn est également laissé au choix du laboratoire. Les colonies caractéristiques ou suspectes retrouvées sur ces milieux sont identifiées par voies biochimique et sérologique. Cette méthode utilisant deux milieux d'enrichissement permet une meilleure détection qu'une méthode avec un seul milieu d'enrichissement (Bohnert et Danguy-des-Desert, 2015). Cependant, la flore annexe pourrait influencer la détection des salmonelles dans les échantillons. Des essais réalisés au LNR *Salmonella*, ont permis d'observer que les salmonelles stressées et/ou en faible nombre dans un échantillon ont besoin d'un temps de latence plus important que celui de la flore annexe pour débiter leur croissance. Ceci pourrait expliquer l'absence de positivité dans certains échantillons de confirmation. L'amélioration de la limite de détection des salmonelles dans les échantillons nécessiterait un échantillonnage plus important.

### 3.5. Présence d'agents potentiellement interférant avec la confirmation

L'utilisation d'agents interférants aurait pour but de masquer la contamination salmonellique d'un troupeau en utilisant des procédés qui soit élimineraient les salmonelles dans l'environnement d'élevage ou dans les prélèvements, soit modifieraient les conditions d'analyse en inhibant la croissance des salmonelles. Ces agents pourraient être chimiques, bactériologiques ou physiques. Leur utilisation avant la réalisation des prélèvements de confirmation dans un troupeau placé sous APMS pourrait entraîner la non-confirmation de l'infection. Dans le cas des prélèvements de confirmation, le traitement direct des échantillons (ajout de désinfectant, traitement physique etc.) est à exclure dans la mesure où les prélèvements sont réalisés par la DDecPP ou exceptionnellement par le vétérinaire sanitaire mandaté.

Conformément à la demande d'AST, une liste d'agents potentiellement interférants à étudier a été dressée par le Bureau de la Santé Animale : les flores de barrières orales (probiotiques) ou environnementales, les traitements antibiotiques, les produits de traitement de la litière et les désinfectants.

#### 3.5.1. Flores de barrière

Administration par voie orale : L'utilisation d'additifs dans l'Union Européenne est réglementée (Règlement N° 1831/2003 modifié). Les flores de barrière figurent parmi les additifs zootechniques autorisés pour leur effet positif sur la production des animaux via une influence sur le microbiote du tractus gastro-intestinal (TGI) (additifs stabilisateurs de la flore intestinale). Dans une meta-analyse menée en 2013, Kerr et coll. ont démontré que plusieurs flores de barrière, dont des produits commerciaux autorisés dans l'Union Européenne, permettraient de réduire significativement le nombre d'oiseaux infectés et la quantité de salmonelles excrétées lors de challenges infectieux. L'administration de flore de barrière pourrait donc par ces deux effets diminuer la sensibilité du dépistage des salmonelles.

Plusieurs études ont démontré que la réduction des salmonelles est attribuée à l'installation des flores de barrière au niveau des sites actifs de la muqueuse intestinale, à la stimulation de la réponse immunitaire et/ou à la production de bactériocines (Salvat *et al.*, 1989; Knap *et al.*, 2011; Kerr *et al.*, 2013). Le tractus gastro-intestinal des volailles est complexe et le microbiote varie en fonction de la structure physiologique des organes, de l'âge des animaux (Salvat *et al.*, 1989), du développement et de la maturité du TGI (Chambers & Gong, 2011; Pauwels *et al.*, 2015). Ce dernier influence également l'efficacité des flores de barrières à réduire *Salmonella* (Chambers *et al.*, 2011; Tellez *et al.*, 2012; Leslie & Young, 2015).

Parmi les flores de barrières, il existe les flores naturelles et les probiotiques. Les premières sont extraites du tube digestif d'animaux adultes sains, capables de se fixer et de se multiplier dans l'intestin, de s'adapter et de produire une réponse immunitaire (Bailey *et al.*, 2000). Les probiotiques sont des additifs alimentaires constitués de microorganismes connus qui ne se multiplient pas, mais qui stabilisent le microbiote bénéfique pour l'animal et qui assurent la protection contre les bactéries pathogènes. Les principaux probiotiques utilisés sont composés de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Saccharomyces* (Feuillet, 2007). Leur administration se fait par pulvérisation sur les animaux à l'éclosion ou voie orale (dans l'eau ou l'alimentation) en élevage; elle n'est pas à reporter obligatoirement dans le registre d'élevage.

Flore de barrières environnementales Le principe de l'application des flores de barrière dans l'environnement d'élevage est d'ensemencer les surfaces du poulailler avec une flore définie et non-pathogène pour empêcher l'implantation de microorganismes indésirables. Ce sont des produits d'hygiène classés dans les biocides ; ils ne sont pas soumis à prescription vétérinaire et leur utilisation n'est pas à reporter réglementairement dans le registre d'élevage. Il est donc difficile d'estimer la fréquence de leur utilisation en élevage. Ces flores sont normalement appliquées après le vide sanitaire, avant l'arrivée des volailles, puis

régulièrement en cours d'élevage. Les produits commerciaux sont généralement composés de plusieurs souches bactériennes associant *Bacillus* et *Lactobacillus*. D'après les documents commerciaux disponibles, ils ont essentiellement une visée préventive. Néanmoins, l'application d'une spécialité commerciale liquide contenant des lactobacilles a permis l'élimination de *S. Typhimurium* dans des échantillons de litière contaminés artificiellement (Sheffield *et al.*, 2014). L'utilisation de tels produits pourrait aussi interférer avec le dépistage dans la mesure où l'augmentation de la flore dite annexe dans les échantillons diminue la probabilité d'isolement des salmonelles.

### **3.5.2. Traitements antibiotiques**

Dans les plans de lutte officiels, tout traitement antibiotique est interdit sur un troupeau de volailles placé sous APMS pour infection salmonellique, sauf sur dérogation du directeur des services vétérinaires. Cette interdiction est liée au fait que de nombreuses familles d'antibiotiques sont susceptibles de réduire l'excrétion salmonellique et donc la probabilité de détection de la bactérie dans un troupeau infecté. Les traitements antibiotiques prescrits sont consignés dans le registre d'élevage, permettant aux services de la DDecPP en charge des prélèvements de confirmation une éventuelle adaptation du protocole de surveillance, en concertation avec le vétérinaire sanitaire.

### **3.5.3. Désinfectants**

Les produits désinfectants destinés au secteur de l'élevage relèvent d'une réglementation en pleine évolution. L'homologation attribuée de 1972 à 2007 par le Ministère de l'Agriculture sur la base d'une réglementation nationale a été reprise par le Ministère de l'Ecologie jusqu'en 2015 sous la forme d'une AMM transitoire tenant compte d'un règlement européen sur les Biocides (n° 528/2012) progressivement mis en place. Une loi publiée le 2 décembre 2015 (loi n°2015-1567) a supprimé l'obligation d'obtenir une AMM nationale pendant la période d'examen des substances actives au niveau européen et dans l'attente d'une AMM au titre du règlement biocides. A terme, et en préalable à l'obtention d'une AMM, cette réglementation prévoit une démarche d'évaluation des risques liés à l'exposition des animaux à ces désinfectants. Jusqu'à ce jour, en l'absence d'évaluation de risques, il est admis que l'application de ces produits doit se faire hors de la portée des animaux. Les biocides désinfectants ne sont pas soumis à prescription vétérinaire, en conséquence de quoi il n'y a pas obligation de report de leur utilisation dans le registre d'élevage.

L'utilisation d'un produit désinfectant en cours d'élevage n'est donc pas une pratique réellement documentée et son incidence sur le dépistage des salmonelles n'a pas été étudiée apparemment. Il est à noter que certains fabricants de produits désinfectants recommandent dans leur documentation en ligne la pulvérisation, la fumigation ou la nébulisation de leur produit en présence de volailles pour assainir l'ambiance des élevages, sans indication plus précise quant aux pathogènes visés.

Dans une démarche courante d'évaluation de l'efficacité des procédures de nettoyage et désinfection en élevage, les prélèvements doivent se faire avec un ajout de neutralisant afin de lever tous risques d'inhibition de la croissance bactérienne et éviter des résultats faussement négatifs. Une réflexion toute particulière doit être menée sur le choix de ce neutralisant qui doit couvrir en termes de spectre un large éventail de produits biocides désinfectants tout en tenant compte de sa capacité à neutraliser une large gamme de concentrations. De la même manière, un usage abusif de désinfectant en période d'élevage, précédant des prélèvements dans l'environnement nécessiterait la mise en place d'un protocole levant tout risque d'inhibition bactérienne, d'autant plus que de nombreux désinfectants utilisés en élevage présentent un caractère rémanent.

### 3.5.4. Produits de traitement de la litière

Il existe une variété importante de produits pouvant être épandus sur la litière des volailles, avec des visées zootechniques, sanitaires et/ou environnementales. L'ITAVI (2012) a distingué quatre grandes classes de produits : les acidifiants, les alcalins, les asséchants et les complexes de micro-organismes. Ce dernier cas est traité plus particulièrement avec les flores de barrière environnementales. Les produits acidifiants, alcalins ou asséchants ne sont pas soumis à prescription vétérinaire ; leur utilisation n'est pas à reporter obligatoirement dans le registre d'élevage.

Les acidifiants de litière (sulfate d'aluminium ou de calcium, bisulfate de sodium, acides organiques ou acides forts...) ont pour but de réduire les émissions d'ammoniac en abaissant le pH du milieu et d'assécher la litière. Certains sont appliqués avant la mise en place des animaux à cause de leur caractère corrosif mais d'autres spécialités sont utilisables en cours d'élevage. Expérimentalement, ces produits entraînent une diminution très variable de la quantité de salmonelles présentes dans les litières usagées (Vandeplas *et al.*, 2010) mais ils pourraient ainsi avoir un impact sur la confirmation d'une infection salmonellique, s'ils étaient utilisés en cours d'élevage après un dépistage positif.

Les produits alcalins, sous forme simple comme la chaux agricole ou sous forme de spécialités commerciales à épandre durant la période d'élevage, augmentent le pH de la litière au-delà de la zone de croissance des salmonelles (pH atteint supérieur à 9) et peuvent éliminer ces bactéries. Ceci a été démontré expérimentalement pour la chaux (Bennett *et al.*, 2003 ; Stringfellow *et al.*, 2010) bien que les résultats ne soient pas forcément reproductibles en élevage commercial (Bennett *et al.*, 2005) et durables plus d'une journée (Bennett *et al.*, 2003).

La plupart des produits de traitement de la litière ont un effet asséchant. Payne *et al.* (2007) ont démontré que la survie des salmonelles dans la litière de volailles est directement dépendante de son humidité, l'abaissement de l'activité de l'eau du substrat entraînant une réduction importante du pathogène. De ce fait, l'épandage de produit asséchant sur la litière avant la réalisation des prélèvements de confirmation pourrait interférer avec la mise en évidence des salmonelles. Certains fabricants de produits de traitement de la litière indiquent une action rémanente jusqu'à une semaine.

### 3.6. Hiérarchisation des facteurs influençant la confirmation d'infection

Les éléments bibliographiques et épidémiologiques présentés dans les chapitres précédents semblent insuffisants à l'heure actuelle pour aboutir à une hiérarchisation des facteurs influençant la confirmation d'infection dans le cadre de l'AST. Une démarche qualitative de hiérarchisation via une expertise collective, intégrant les éléments collectés et/ou une élicitation d'experts, pourrait être envisagée dans le cadre d'une saisine dédiée.

### 3.7. Etude complémentaire sur les facteurs influençant la confirmation d'infection

Les éléments épidémiologiques recueillis en 2014 et les informations bibliographiques ont permis de dresser une première liste de facteurs influençant la confirmation d'infection. Cependant, le manque de données sur la fréquence de survenue de ces facteurs et leur impact sur le dépistage empêche une analyse qualitative ou quantitative de leur criticité. En réponse à la proposition de mise en œuvre d'un protocole d'étude sur les confirmations (point I)1) de la saisine), deux études complémentaires pourraient donc être proposées afin d'identifier les facteurs les plus importants à maîtriser dans les actes de confirmation :

- Une première étude analytique sur la fréquence et l'impact de certains facteurs sur le taux de confirmation pourrait être conduite en tirant profit d'informations existantes mais non recueillies et exploitées sur les conditions de réalisation des confirmations. Ainsi une étude sur les APMS incidents pourrait-elle permettre de recueillir, via des

outils d'enquête standardisés, des données sur la situation épidémiologique et les conditions de réalisation et d'analyse des prélèvements de confirmation. L'exploitation de ces données permettrait de mettre en évidence d'éventuels liens entre les facteurs étudiés et le taux de confirmation pour affiner les recommandations sur la réalisation de la confirmation. Cependant, ce type d'enquête pourra difficilement prendre en compte certains agents potentiellement interférant avec le dépistage soit parce que les informations sur leur utilisation ne sont pas facilement disponibles à l'élevage (pas d'inscription systématique au registre d'élevage, nécessité d'interroger précisément l'éleveur) soit à cause de leur utilisation frauduleuse. Dans ce cas, seules des analyses complémentaires sur les échantillons, si les méthodes analytiques existent, permettraient de les mettre en évidence. Si une étude sur les cas incidents de contaminations salmonelliques s'avérait difficile à mettre en œuvre, il serait possible de réaliser une enquête sur l'utilisation des produits d'hygiène en élevage afin d'obtenir des données d'usage sur ces spécialités non soumises à prescription mais potentiellement interférant avec le dépistage salmonellique.

- Concernant l'impact des agents potentiellement interférant, une enquête auprès des fournisseurs de produits biocides pourrait permettre de mieux caractériser et quantifier leurs effets sur le dépistage.

#### **4. Mise en évidence des agents potentiellement interférant avec le dépistage**

##### **4.1. Indicateur indirect de l'utilisation d'agent interférant : l'absence de pousse**

La plupart des procédés visant à éliminer les salmonelles n'étant pas sélectifs, l'emploi de ces agents pourrait mener à l'observation de prélèvements « stériles » au sens des arrêtés de lutte officiels. L'obtention de tels résultats étant impossible dans un environnement d'élevage, ceci constitue une anomalie qui doit être reportée au préfet/DDecPP par le laboratoire agréé conformément aux arrêtés. La survenue d'absence de pousse sur prélèvement de confirmation peut donc être considérée comme un indicateur indirect de l'utilisation, volontaire ou involontaire, d'un agent interférant. Le report d'absence de pousse dans SIGAL n'est pas encore pleinement effectif sur l'ensemble des laboratoires, empêchant d'avoir une vision exhaustive de leur survenue. En 2014, sur 176 APMS ayant fait l'objet de prélèvements de confirmation et renseignés dans SIGAL, il y aurait au minimum 3 séries concernées par des absences de pousse donc 1,7% des actes de confirmation au total (Annexe 3). Dans 2 de ces cas, la suspicion n'a pas été confirmée, tous les autres prélèvements étant négatifs en 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> séries.

##### **4.2. Mise évidence de l'utilisation de flore de barrière**

Les flores de barrières sont des moyens de lutte généralement administrés de manière préventive qui peuvent diminuer la multiplication ou l'excrétion de salmonelles dans les troupeaux, ce qui peut rendre plus aléatoire la mise en évidence d'une contamination. La mise en évidence de leur utilisation au laboratoire n'est pas possible à l'exception de flores marquées au préalable.

##### **4.3. Mise en évidence de l'utilisation d'un traitement antibiotique**

Les arrêtés de lutte prévoient que sur une deuxième série de confirmation, le directeur des services vétérinaires puisse demander « la recherche d'inhibiteurs par une technique recommandée par le laboratoire national de référence pour la recherche des antibiotiques

sur au moins 5 sujets prélevés au hasard dans le troupeau ». Il est extrêmement difficile de savoir si ce recours est effectivement utilisé, cet acte n'étant pas reporté dans SIGAL. La méthode utilisable dans cette situation est la méthode de détection des résidus à activité antibiotique dans le muscle, dite méthode des quatre boîtes (LMV/90/01 version 7). Cette recherche peut permettre de mettre en évidence une utilisation non autorisée d'un traitement antibiotique à condition que la molécule utilisée soit absorbée au niveau du tube digestif, ce qui n'est pas le cas de la colistine par exemple. La méthode des quatre boîtes ne permet pas d'identifier le produit utilisé. En 2015, une méthode analytique utilisant la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse a été développée et validée pour détecter les résidus de plusieurs types d'antibiotiques actifs sur *Salmonella* dans les fientes de volailles (Gorissen *et al.*, 2015). Cette méthode, si elle était transférable au LNR pour les résidus de médicaments vétérinaires et aux laboratoires départementaux équipés, présenterait les avantages de couvrir un plus grand nombre de famille d'antibiotiques en une seule analyse, d'identifier l'antibiotique utilisé et d'éviter de prélever des animaux pour la recherche d'inhibiteurs.

#### **4.4. Mise en évidence de l'utilisation d'un produit désinfectant**

Il est *a priori* extrêmement difficile de mettre en évidence l'utilisation d'un désinfectant en milieu d'élevage du fait du grand nombre de molécules biocides potentiellement utilisables et de l'absence de méthode de référence pour caractériser des résidus de désinfectant dans l'environnement. La survenue d'absence de pousse sur prélèvement reste donc l'indicateur le plus facile à utiliser pour caractériser l'utilisation d'un désinfectant même s'il s'agit d'un indicateur indirect non spécifique.

#### **4.5. Mise en évidence de l'utilisation d'un produit de traitement de la litière**

L'emploi de produits acides ou basiques sur la litière pourrait être détecté par une mesure du pH de l'échantillon de confirmation au laboratoire. Cependant, la mise en place de ce contrôle nécessiterait d'abord une étape d'élaboration d'un protocole de mesure de pH standardisé puis son déploiement dans l'ensemble des laboratoires agréés. De nouveau, l'absence de pousse est un indicateur qui peut être facilement disponible pour renseigner indirectement sur l'utilisation de ces produits.

### **5. Conclusions**

- Il est difficile d'évaluer statistiquement s'il y a une baisse du taux de confirmation des infections salmonelliques dans les filières avicoles en France entre 2012 et 2014 compte tenue de la courte période étudiée, de la faible fréquence des suspicions dans les étages supérieurs des filières et des variations annuelles importantes du nombre de cas. La baisse du taux de confirmation serait confirmée en 2013 et 2014 par rapport à 2012 pour les troupeaux de poules pondeuses d'œufs de consommation mais ce constat devrait être consolidé en tenant compte des éventuels APDI directs pris en 2012 et 2013 dans cette filière.
- La confirmation, telle que prévue dans les arrêtés de lutte, survient dans deux situations épidémiologiques distinctes : en 2014, environ deux tiers des actes de confirmation ont fait suite à un dépistage positif sur le troupeau et un tiers à une suspicion sur lien épidémiologique avec un cas avéré.
- La confirmation d'une suspicion sur lien épidémiologique relève plus d'un acte de dépistage complémentaire ciblé que d'une réelle confirmation d'infection. Elle apporte des éléments épidémiologiques indispensables à l'identification de l'origine d'un foyer et à la gestion opérationnelle du cas index d'infection.

- L'absence de confirmation d'une infection salmonella suite à un dépistage positif est un phénomène fréquent dans toutes les filières et à tous les étages.
- Le ré-isolément d'une salmonelle dans un troupeau suspect peut dépendre de facteurs épidémiologiques et de facteurs liés aux conditions de réalisation de la confirmation.
- La faible prévalence de l'excrétion salmonella dans les troupeaux infectés, particulièrement ceux vaccinés, semble fréquente et impacterait fortement la probabilité de ré-isolément de la bactérie.
- On constate au vu des données épidémiologiques collectées en 2014 qu'une suspicion est d'autant plus fréquemment confirmée qu'un nombre important de prélèvements de dépistage est positif, témoignant d'un niveau de contamination élevé au sein du troupeau.
- Les informations épidémiologiques et bibliographiques actuellement disponibles ne permettent pas une hiérarchisation des facteurs influençant la confirmation selon leur importance relative dans la survenue des non confirmations suite à un dépistage positif.
- L'utilisation d'agents potentiellement interférant avec le dépistage ne peut être exclue des facteurs influençant la confirmation suite à un dépistage positif. Il existe des éléments suffisants pour considérer que les antibiotiques, les désinfectants, les traitements acidifiant, alcalinisant et asséchant des litières et les flores de barrières orales pourraient interférer avec la confirmation d'infection. Pour les flores de barrières environnementales, le manque de données ne permet pas de conclure quant à leur impact sur la confirmation. L'utilisation de ces produits, à l'exception des antibiotiques, n'est pas à reporter réglementairement dans le registre d'élevage et il n'existe donc pas de données directement disponibles sur leur usage en élevage.
- La survenue d'absence de pousse sur prélèvement de confirmation est un résultat anormal dont il est difficile d'estimer la fréquence en l'absence d'exhaustivité de son report dans SIGAL. Il s'agit d'un indicateur indirect de l'utilisation volontaire ou involontaire d'un agent interférant avec le dépistage et elle justifierait *a minima* la réalisation de nouveaux prélèvements pour conclure sur le résultat de la confirmation.
- Le respect des plans minimaux d'échantillonnage prévus dans les arrêtés de lutte permet, selon l'état actuel des connaissances, d'assurer une sensibilité élevée du protocole de confirmation. L'augmentation du nombre de prélèvements ne serait à considérer que pour des situations épidémiologiques particulières telles que le dépistage dans un troupeau vacciné.
- L'obtention et l'analyse d'informations complémentaires sur les conditions de réalisation des prélèvements de confirmation pourraient permettre, sur les cas incidents, de mieux caractériser l'impact de certains facteurs sur la probabilité de ré-isolément des salmonelles dans un troupeau dépisté positif. Cette étude est un préalable nécessaire pour orienter une éventuelle étude d'intervention sur la réalisation des prélèvements de confirmation.

## **6. Recommandations**

### **6.1. Recommandations relatives aux conditions épidémiologiques à considérer pour justifier une confirmation d'infection**

- Compte-tenu du risque d'émergence du danger sanitaire de 1<sup>ère</sup> catégorie *S. Kentucky* résistant à la ciprofloxacine, actuellement absent de France, la prise de

mesures de gestion de l'infection immédiates lors de l'isolement de ce sérotype lors d'un dépistage obligatoire ou officiel est recommandée.

- La prise d'un APMS sur un lien épidémiologique permet la réalisation d'un dépistage complémentaire ciblé sur le troupeau en lien avec un foyer et ainsi l'obtention d'éléments épidémiologiques utiles à la mise en œuvre des mesures de gestion du cas index d'infection. Il est recommandé que ces prélèvements ne soient plus considérés comme des prélèvements de confirmation d'infection mais des prélèvements complémentaires de dépistage ciblé.
- Les historiques salmonelliques du troupeau (suspicion antérieure non confirmée, absence de résultat de dépistage valide) et du bâtiment hébergeant le troupeau pourraient être des éléments épidémiologiques à considérer dans la décision du recours à la confirmation.
- Le nombre de prélèvements positifs lors du dépistage à l'origine de la suspicion est un élément épidémiologique qui pourrait être considéré dans la décision du recours à la confirmation d'infection, afin d'assurer une gestion du risque proportionnée à l'intensité de la suspicion.
- Le respect de la charte sanitaire pour le troupeau suspect pourrait être un élément épidémiologique à considérer dans la décision du recours à la confirmation, étant donné que les barrières sanitaires que la charte impose aident à prévenir l'introduction et la dissémination des salmonelles.

## **6.2. Recommandations relatives à la réalisation des prélèvements de confirmation**

- La mise en œuvre de prélèvements de confirmation devrait s'accompagner d'un engagement du détenteur des animaux à n'utiliser aucun produit ou moyen susceptibles d'altérer la sensibilité du plan d'échantillonnage. Parmi les produits susceptibles d'interférer avec le dépistage des salmonelles, il faudrait *a minima* considérer les flores de barrières orales, les traitements antibiotiques, les traitements acidifiant, alcalinisant ou asséchant des litières et les produits de désinfection, pour lesquels ils existent des éléments permettant de suspecter un impact sur la sensibilité de la confirmation et du dépistage en général.
- Le bon respect du plan minimal de prélèvement pour la confirmation prévu dans les arrêtés de lutte constitue un élément déterminant pour la sensibilité de détection et devrait donc être amélioré.
- La réalisation des prélèvements de confirmation devrait s'accompagner systématiquement d'une consultation préalable du registre d'élevage et, si elle existe, de la fiche de lot, pour récolter les informations sur les pratiques ou conditions d'élevage pouvant influencer la sensibilité du dépistage. Un renforcement du plan d'échantillonnage ou un report des prélèvements pourraient alors être décidés afin d'assurer les meilleures conditions possibles pour la confirmation.
- Le recours à des agents neutralisants des désinfectants devrait être généralisé lors des prélèvements des échantillons de confirmation. Incorporés dans les milieux de prélèvement ou/et au cours de l'analyse au laboratoire, l'absence de spécificité de ces neutralisants ne permet pas de conclure à la seule présence de désinfectants mais plus largement à la présence de substances chimiques inhibitrices des microorganismes.
- De nombreux produits couramment utilisés en élevage pourraient interférer avec la confirmation des infections salmonelliques. Une information spécifique sur cet effet potentiellement interférant devrait donc être ajoutée dans la fiche technique de ces produits.
- L'utilisation de ces produits biocides devrait être reportée dans le registre d'élevage afin d'augmenter la transparence sur leur utilisation et faciliter une mise en œuvre efficace de la confirmation, ou du dépistage salmonellique en général.

### 6.3. Recommandations relatives à l'amélioration de la surveillance épidémiologique

- Les actes de dépistage officiels et de confirmation incluent le renseignement de données épidémiologiques sur le troupeau et sur les conditions de réalisation des prélèvements, auquel une attention particulière devrait être apportée. Une exploitation plus avancée de ces informations, comprenant leur vérification et leur consolidation en cas de manque, permettrait de mieux documenter la situation épidémiologique des troupeaux de volailles vis-à-vis des salmonelloses réglementées, de poursuivre l'analyse des facteurs pouvant influencer le taux de confirmation d'infection et de contribuer à l'évaluation du système de surveillance actuel.
- Les absences de pousse sont un facteur important à considérer pour la validation des résultats du dépistage. Une harmonisation et une systématisation de la déclaration des absences de pousse sur la totalité du réseau de laboratoires agréés et reconnus est nécessaire pour assurer le suivi épidémiologique de cet indicateur.

## 7. Bibliographie

### 7.1. Publications

Arnold ME, Carrique-Mas JJ, Davies RH (2010) Sensitivity of environmental sampling methods for detecting *Salmonella* Enteritidis in commercial laying flocks relative to the within-flock prevalence. *Epidemiology and Infection* 138(3), 330-339.

Arnold ME, Carrique-Mas JJ, McLaren I, Davies RH (2011) A comparison of pooled and individual bird sampling for detection of *Salmonella* in commercial egg laying flocks. *Preventive Veterinary Medicine* 99, 176-184.

Bailey J, Stern NJ, Cox NA (2000) Commercial Field Trial Evaluation of Mucosal Starter Culture To Reduce *Salmonella* Incidence in Processed Broiler Carcasses. *Journal of Food Protection* 63, 867-870.

Behnke EL, Hofacre CL, Berghaus RD (2013) Estimation of the prevalence of *Salmonella* species on the slatted area compared to the scratch area of broiler breeder chicken houses. *Avian Diseases* 57(3), 634-9.

Bennett DS, Higgins SE, Moore RW, Beltran R, Caldwell DJ, Byrd II JA, Hargis BM (2003) Effects of lime on *Salmonella* Enteritidis survival in vitro. *Journal of Applied Poultry Science* 12, 65-68.

Bennett DS, Higgins SE, Moore R, Byrd II JA, Beltran R, Corsiglia C, Caldwell D, Hargis BM (2005) Effect of addition of hydrated lime to litter on recovery of selected bacteria and poult performance. *Journal of Applied Poultry Science* 14, 721-727.

Bohnert M, Danguy des Deserts D (2015) The use of a second selective enrichment medium for the detection of *Salmonella* spp. in samples from the primary production stage: a French study. *Newsletter of European Union Reference Laboratory for *Salmonella** 21(4), 4-12.

Carrique-Mas JJ, Davies R (2008) Sampling and bacteriological detection of *Salmonella* in poultry and poultry premises: a review. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties* 27(3), 665-677.

Chambers JR, Gong J (2011) The intestinal microbiota and its modulation for *Salmonella* control in chickens. *Food Research International* 44, 3149-3159.

Chasset P, Guillon F, Bohnert M (2014) An overview of the implementation of the control programme for *Salmonella* in *Gallus gallus* and *Meleagris gallopavo* flocks in 2013. *Bulletin épidémiologique* 64, 60-65.

Davies R, Carrique-Mas J.J (2011) Detection and monitoring of *Salmonella* in laying hen flocks. In 'Improving the safety and quality of eggs and egg products' (Eds F van Immerseel, Y Nys, M Bain) pp. 81-106. (Woodhead Publishing Limited: Cambridge, UK).

de Vylder J, van Hoorebeke S, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Dewulf J, van Immerseel F (2009) Effect of the housing system on shedding and colonization of gut and internal organs of laying hens with *Salmonella* Enteritidis. *Poultry Science* 88(12), 2491-2495.

EFSA (2004) Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to the use of vaccines for the control of *Salmonella* in poultry. *The EFSA Journal* 114, 1-74

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) (2010) Scientific Opinion on monitoring and assessment of the public health risk of "*Salmonella* Typhimurium-like" strains. *EFSA Journal* 8(10):1826. [48pp.] doi:10.2903/j.efsa.2010.1826. Available online: [www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm)

Feuillet L. Etude comparée des vaccins et des flores bactériennes dans la lutte contre les Salmonelles en élevage de poules pondeuses – étude bibliographique. Thèse Méd. Vet., École Nationale Vétérinaire D'Alfort. 2007, 164p. Available online: <http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1062>

García C, Soriano JM, Benítez V, Catalá-Gregori P (2011) Assessment of salmonella spp. in feces, cloacal swabs, and eggs (eggshell and content separately) from a laying hen farm. *Poultry Science* 90(7), 1581-1585.

Gast RK, Guraya R, Jones DR, Anderson KE (2013) Colonization of internal organs by *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. *Poultry Science* 92(2), 468-473.

Gast RK, Guraya R, Jones DR, Anderson KE (2015) Persistence of fecal shedding of *Salmonella* Enteritidis by experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. *Poultry Science* 94(7), 1650-1656

Gorissen B, Reyns T, Devreese M, De Backer P, Van Loco J, Croubels S (2015) Determination of selected veterinary antimicrobials in poultry excreta by UHPLC-MS/MS, for application in *Salmonella* control programs. *Anal Bioanal Chem* 407(15), 4447-57.

Guard J, Sanchez-Ingunza R, Shah D. H, Rothrock M. J, Gast R. K, Jones D. R (2015) Recovery of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from hens initially infected with serovar Kentucky. *Food Chemistry*, 189, 86-92.

ITAVI (2012) Vers une gestion efficace des litières. Brochure, ISBN 978-2-85969-219-3, 12 p.

Kerr AK, Farrar AM, Waddell LA, Wilkins W, Wilhelm BJ, Bucher O, Wills RW, Bailey RH, Varga C, McEwen SA, Rajic A (2013) A systematic review-meta-analysis and meta-regression on the effect of selected competitive exclusion products on *Salmonella* spp. prevalence and concentration in broiler chickens. *Preventive Veterinary Medicine* 111, 112-125.

Knap I, Kehlet AB, Bennedsen M, Mathis GF, Hofacre CL, Lumpkins BS, Jensen MM, Raun M, Lay A (2011) *Bacillus subtilis* (DSM17299) significantly reduces *Salmonella* in broilers. *Poultry Science* 90, 1690-1694.

Leslie JL, Young VB (2015) The rest of the story: the microbiome and gastrointestinal infections. *Current Opinion in Microbiology* 23, 121-125.

Mahé A, Bougeard S, Huneau-Salaün A, Le Bouquin S, Petetin I, Rouxel S, Lalande F, Beloeil PA, Rose N (2008) Bayesian estimation of flock-level sensitivity of detection of *Salmonella* spp., Enteritidis and Typhimurium according to the sampling procedure in French laying-hen houses. *Preventive Veterinary Medicine* 84(1-2), 11-26.

- Martelli F, Gosling R, Kennedy E, Rabie A, Reeves H, Clifton-Hadley F, Davies R, La Ragione R (2014) Characterization of the invasiveness of monophasic and aphasic *Salmonella* Typhimurium strains in 1-day-old and point-of-lay chickens. *Avian Pathology* 43(3), 269-275.
- Office Alimentaire et Vétérinaire (2013) Rapport final d'un audit effectué en France du 19 au 29 novembre 2013 afin d'évaluer les programmes nationaux de contrôle des salmonelles, en particulier chez les volailles. DG(SANCO) 2013-6689 - RM FINAL, 24 p.
- Pauwels J, Taminau B, Janssens GPJ, Beenhouwer M, Delhalle L, Daube G, Coopman F (2015) Caecal drop reflects the chickens' caecal microbiome, fecal drop does not. *Journal of Microbiological Methods* 117, 164-170.
- Payne JB, Osborne JA, Jenkins PK, Sheldon BW (2007) Modeling the growth and death kinetics of *Salmonella* in poultry litter as a function of pH and water activity. *Poultry Science* 86, 191-201.
- Salvat G, Humbert F, Colin P (1989) Protection du poussin contre l'infection par une souche de *Salmonella* Typhimurium à l'aide d'une flore de barrière issue de sujets exempts d'organismes pathogènes spécifiés de différents âges. *Avian Pathology* 18, 345-350.
- Schulz J, van Hoorebeke S, Hald B, Hartung J, van Immerseel F, Radtke I, Kabell S, Dewulf J (2011) The dynamics of salmonella occurrence in commercial laying hen flocks throughout a laying period. *Avian Pathology* 40(3), 243-248.
- Sheffield C. L, Crippen T. L, Beier R. C, Byrd J. A (2014) *Salmonella* Typhimurium in chicken manure reduced or eliminated by addition of It1000. *Journal of Applied Poultry Science*, 23(1), 116-120.
- Stringfellow K, Caldwell D, Lee J, Byrd A, Carey J, Kessler K, McReynolds J, Bell A, Stipanovic R, Farnell M (2010) Pasteurization of chicken litter with steam and quicklime to reduce *Salmonella* Typhimurium. *Journal of Applied Poultry Science* 19, 380-386.
- Tellez G, Pixley C, Wolfenden RE, Layton SL, Hargis BM (2012) Probiotics/direct fed microbials for *Salmonella* control in poultry. *Food Research International* 45, 628-633.
- van Hoorebeke S, Van Immerseel F, De Vylder J, Ducatelle R, Haesebrouck F, Pasmans F, De Kruif A, Dewulf J (2009) Faecal sampling underestimates the actual prevalence of *Salmonella* in laying Hen flocks. *Zoonoses and Public Health* 56(8), 471-476.
- van Hoorebeke S, van Immerseel F, de Vylder J, Ducatelle R, Haesebrouck F, Pasmans F, de Kruif A, Dewulf J (2010) The age of production system and previous *Salmonella* infections on-farm are risk factors for low-level *Salmonella* infections in laying hen flocks. *Poultry Science* 89(6), 1315-1319.
- Vandeplass S, Dubois Dauphin R, Beckers Y, Thonart P, Théwis A (2010) *Salmonella* in chicken: Current and developing strategies to reduce contamination at farm level. *Journal of Food Protection* 73(4), 774-785.
- Wales AD, Davies RH (2011) A critical review of *Salmonella* Typhimurium infection in laying hens. *Avian Pathology* 40(5), 429-436.

## **7.2. Sites internet commerciaux consultés**

- [http://www.gbpenvironnement.com/GBP/menu/rAwAAKIF\\_Stqa0luZfZNT3BuMwA](http://www.gbpenvironnement.com/GBP/menu/rAwAAKIF_Stqa0luZfZNT3BuMwA)
- <http://www.filavie.fr/biofilms/desinfection-biologique/>
- [http://www.syntheseelevage.com/media/selettrevolaille\\_no2\\_31janv\\_\\_082459300\\_1727\\_27022012.pdf](http://www.syntheseelevage.com/media/selettrevolaille_no2_31janv__082459300_1727_27022012.pdf)
- <http://www.dietaxion.com/bases/produit/pdf1/12/FT%20Cobiotex%20410%20V18%20FR%202013-12-09.pdf>
- <http://www.appro-elevage.fr/categorie-produit/hygiene/probiotique/>
- <http://www.calciappro.fr/c/308/p/a4a93693f0a51412c4086133777f1edc/STALOSAN-F-Granules-Asseche-et-assainit-litieres-nids-tapis-Oui-Volaille-Hygiene-des-animaux-Volaille-hygiene-des-animaux-.html>

[http://www.saniblanco.fr/pdf/Saniblanco\\_litieres.pdf](http://www.saniblanco.fr/pdf/Saniblanco_litieres.pdf)

<http://www.rosier.eu/files/Biosuper%20CLASSIC%20Rosier%2012%202004.pdf>

<http://www.teraganix.com/Effective-Microorganisms-Poultry-Solutions-s/134.htm>

### **7.3. Normes**

LMV/90/01 Méthode de détection des résidus à activité antibiotique dans le muscle -méthode des quatre boîtes, version 7. Méthode Officielle Française.

### **7.4. Législation et réglementation**

Arrêté du 26 février 2008 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella* dans les troupeaux de l'espèce *Gallus gallus* en filière ponte d'œufs de consommation et fixant les modalités de déclaration des salmonelloses aviaires, visées à l'article D. 223-1 du code rural et de la pêche maritime, dans ces mêmes troupeaux (JORF du 5 mars 2008).

Arrêté du 26 février 2008 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella* dans les troupeaux de reproduction de l'espèce *Gallus gallus* en filière chair et fixant les modalités de déclaration des salmonelloses aviaires, visées à l'article D. 223-1 du code rural et de la pêche maritime, dans ces mêmes troupeaux NOR: AGRG0803846A.

Arrêté du 4 décembre 2009 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella* dans les troupeaux de dindes de reproduction de l'espèce *Meleagris gallopavo* et fixant les modalités de déclaration des salmonelloses aviaires, visées à l'article D. 223-1 du code rural, dans ces mêmes troupeaux NOR: AGRG0928623A.

Arrêté du 17 février 2015 modifiant l'arrêté ministériel du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales NOR: AGRG1504715A

ELI:<http://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2015/2/17/AGRG1504715A/jo/texte>

LOI n° 2015-1567 du 2 décembre 2015 portant diverses dispositions d'adaptation au droit de l'Union européenne dans le domaine de la prévention des risques (JORF n°0280 du 3 décembre 2015 page 22299).

Règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur le contrôle des salmonelles et d'autres agents zoonotiques spécifiques présents dans la chaîne alimentaire [J.O L 325 du 12.12.2003]

Règlement (CE) n° 1831/2003 du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2003 relatif aux additifs destinés à l'alimentation des animaux [J.O L 268 du 18/10/2003]

Règlement (CE) N° 1237/2007 de la Commission du 23 octobre 2007 modifiant le règlement (CE) no 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil et la décision 2006/696/CE en ce qui concerne la mise sur le marché d'œufs provenant de cheptels de poules pondeuses infectés par les salmonelles [J.O L 280/5 du 24.10.2007]

Règlement (UE) N° 200/2010 de la Commission du 10 mars 2010 portant application du règlement (CE) no 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne la fixation de l'objectif de l'Union en matière de réduction de la prévalence de sérotypes de salmonelles dans les cheptels d'animaux adultes de reproduction de l'espèce *Gallus gallus* [J.O L 61/1 du 11.3.2010]

Règlement (UE) N° 517/2011 de la Commission du 25 mai 2011 portant application du règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne la fixation de l'objectif de l'Union en matière de réduction de la prévalence de certains sérotypes de salmonelles chez les poules pondeuses de l'espèce *Gallus gallus* et portant modification du règlement (CE) no 2160/2003 et du règlement (UE) no 200/2010 de la Commission [J.O L 138/45 du 26.5.2011]

Règlement (UE) n ° 528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides [J.O L 167/1 du 27.6.2012]

## ANNEXES

**Annexe 2.1 : Lettre de la demande**

**Annexe 2.2 : Eléments descriptifs sur les actes de suspicion et de confirmation d'infection par les salmonelles des troupeaux de volailles en France en 2014**

**Annexe 2.3 : Eléments descriptifs sur les absences de pousse sur prélèvements de dépistage obligatoire ou officiel et sur prélèvements de confirmation en 2014**

---

## ANNEXE 2.1

### Lettre de la demande



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT

**Direction Générale de l'Alimentation**  
**Service des actions sanitaire en production**  
**primaire**  
**Sous-Direction de la Santé et de la Protection**  
**Animales**

**Bureau Santé Animale**

**Adresse** : 251, rue de Vaugirard  
75 732 PARIS CEDEX 15  
**Dossier suivi par** : François GUILLON  
**Téléphone** : 01 49 55 44 38  
Courriel : francois.guilon@agriculture.gouv.fr

**Réf. interne** : 15020

Monsieur le Directeur Général de l'Agence  
nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,  
de l'environnement et du travail

27-31, avenue du Général Leclerc  
BP 19  
94 701 MAISONS-ALFORT cedex

Paris, le

**Objet** : amélioration des plans de lutte officiels contre les salmonelles en aviculture, efficacité du dépistage.

L'analyse des bilans annuels relatifs aux plans de lutte indique des évolutions susceptibles de remettre en cause leur efficacité ou leur fiabilité.

Ces dernières années, en particulier durant la période 2012-2014, il a été constaté les trois évolutions suivantes :

- une diminution des taux de confirmation (des prélèvements de confirmations étant systématiquement réalisés par les DDPP après une première positivité à l'élevage ou en cas de suspicion hors prélèvements). Cette diminution est constatée à différents étages et filières,

- l'utilisation de procédés divers faussant le dépistage, de façon intentionnelle ou non, objectivés en partie par les laboratoires sous forme d'absence de pousse des prélèvements analysés,

- une stagnation ou une tendance à l'augmentation des prévalences relatives aux sérotypes considérés comme danger sanitaire de première catégorie, variables selon les filières et les étages. L'augmentation est notable en filière chair aux étages multiplication et production (volailles d'engraissement, essentiellement les élevages de poulets de chair). Cette tendance aurait été nettement plus élevée sans recours à la confirmation.

Toutes ces constatations relèvent des données disponibles depuis le début d'année (qui couvrent donc la totalité de l'année 2014).

Selon la signification épidémiologique qu'il convient d'accorder aux évolutions constatées, je vous serais reconnaissant de bien vouloir répondre aux questions suivantes :

1) Questions liées à la diminution des taux de confirmation dans les différentes filières

1) origine de la baisse des taux de confirmation (nombre APMS/nombre d'APDI) constatée dans les différentes filières soumises aux plans de lutte officiels

Cette question a pour objet d'identifier les causes expliquant la faiblesse des taux de confirmation constatée depuis au moins trois ans. L'absence de confirmation, malgré l'obligation de réaliser deux séries de prélèvements renforcés, peut être due à la présence d'agents interférents, qu'il conviendrait d'identifier dans la mesure du possible, ainsi qu'à d'autres facteurs liés par exemple aux conditions de réalisation des analyses dans les laboratoires ou aux modalités de prélèvements (y compris le choix des matrices utilisées).

Ce sujet a été évoqué lors d'une réunion consacrée aux plans de lutte officiels contre les salmonelles le 13 février 2015 à la DRAAF de Rennes avec la participation de la direction santé animale de l'Anses et de mes services.

Il a été envisagé de procéder en deux étapes afin de répondre à la question posée :

- dans un premier temps, en conduisant une analyse fine des données extraites de Sigal à partir des suspicions (APMS) et confirmations (APDI) déclarées en 2014 par les DDPP,
- dans un deuxième temps, si l'analyse des données disponibles dans Sigal ne permet pas d'apporter des réponses concluantes, en mettant en œuvre un protocole de prélèvements sur une période suffisamment longue pour obtenir des résultats significatifs.

Ce protocole consisterait à faire effectuer par les agents des DDPP des prélèvements de confirmation standardisés après chaque positivité constatée en élevage ou pour tout type de suspicion. Les agents des DDPP, a priori un par département, recevraient à cet effet une formation initiale au protocole de prélèvements dispensée par l'Anses ainsi que par les référents nationaux et le BSA.

Les prélèvements seraient analysés au LNR, ils se substitueraient aux prélèvements de confirmation habituellement réalisés par les DDPP. Toutes les filières et tous les étages visés par les plans de lutte officiels seraient concernés. Le protocole s'appliquerait à l'ensemble des départements, ou bien à ceux présentant historiquement le plus de contaminations afin d'éviter un effet de dispersion dû à la multiplicité des préleveurs (de nature à mettre en cause l'homogénéité des conditions de prélèvements).

Afin d'éviter complètement l'inconvénient de recourir à des personnes différentes, au savoir-faire, voire à la motivation, inégal, l'autre possibilité serait que l'agent de l'Anses en charge de l'application du protocole effectue lui-même les prélèvements en élevage. Il serait dans ce cas accompagné par un agent de la DDPP disposant des connaissances zootechniques et au courant du contexte local.

Le protocole fixerait des conditions de prélèvements optimales (nombre de matrices, nature, méthode de prélèvements) pour la mise en évidence des sérotypes réglementés dans les deux types de suspicions : - les suspicions après isolement lors du dépistage obligatoire (dont la réalisation revient aux professionnels) ou officiel (effectué par les DDPP), et - les suspicions établies sur la base d'un lien épidémiologique ou d'une positivité à l'éclosion.

Il viserait impérativement à s'assurer de l'absence de facteurs interférents de nature à empêcher le développement des salmonelles.

La finalité du protocole, qui repose sur la mise en évidence de salmonelles en élevage, devra s'accorder avec les objectifs fixés par les règlements de l'UE, notamment le règlement 200/2010 applicable aux cheptels de reproducteurs de l'espèce Gallus gallus.

Ainsi, le protocole ne vise pas à remettre en cause la signification d'une positivité en première intention lors du dépistage, même limitée à une matrice, qui répondrait aux conditions définies par les règlements de l'UE en vue de respecter les objectifs visés.

Si l'étude conduite sur la base du protocole aboutit à constater à nouveau des taux de confirmation faibles, elle s'efforcera également d'en expliquer les raisons précises, ce malgré les difficultés à identifier certains agents interférents (flore de barrière) dans le cas où ces agents seraient suspectés.

La mise en œuvre d'un protocole de prélèvements nécessite la mise à disposition d'un agent de laboratoire par l'Anses.

Il serait souhaitable que l'étude débute le plus tôt possible, au plus tard au mois de juin, ou juillet, 2015.

Elle aboutira à des recommandations en fonction des conclusions retenues.

Le protocole pourrait être étendu aux élevages présentant des absences de pousse lors du dépistage dans la mesure où il convient d'identifier le plus possible les causes de ce phénomène et d'évaluer dans quelle mesure il masque la présence de salmonelles lors du dépistage.

## 2) mise en évidence des agents interférents avec le dépistage

Les laboratoires ont été sensibilisés à l'importance qu'il convient d'accorder au signalement des absences de pousse, qui indiquent sans conteste l'utilisation de produits interférant et faussant le dépistage. Des absences de pousse ont été signalées par certains laboratoires en 2014, elles ont été extraites de Sigal en vue d'analyser cette anomalie.

Il est possible également que les agents interférents, sans provoquer de culture stérile lors de l'analyse des prélèvements, inhibent en partie le développement des salmonelles et contrarient leur mise en évidence.

Il serait donc intéressant de pouvoir disposer de moyens indiquant l'emploi d'agents interférents en élevage.

Lors de la réunion du 13 février, l'effet de certains « produits interférents » sur le pH du milieu de prélèvement a été évoqué : élévation du pH pour les asséchants de litière, ou abaissement du pH du milieu de préenrichissement pour les flores lactiques utilisées à l'intérieur et sur les surfaces des bâtiments.

## 3) effets des agents interférents sur le dépistage des troupeaux soumis aux plans de lutte officiels

Cette question complète la question précédente.

Il s'agit de mesurer l'effet des produits employés à des titres divers, qui inhibent par leur action propre ou indirectement, par compétition de germes par exemple, les salmonelles.

La liste des types de produits couramment utilisés, y compris les antibiotiques selon divers procédés, figure dans la présentation effectuée lors de la réunion du 13 février. Cette liste a été établie selon les informations remontées à partir des inspections conduites dans les élevages ou dans les couvoirs.

## 4) conditions justifiant des prélèvements de confirmation après une première positivité

À la lumière des réponses apportées aux questions 1), 2) et 3), il est demandé de déterminer les conditions dans lesquelles il conviendrait d'effectuer des prélèvements de confirmation.

A la suite de l'inspection conduite par l'OAV en 2013, il est en effet prévu de supprimer le caractère systématique des prélèvements de confirmation après positivité en élevage actuellement

fixé par la réglementation française afin de mettre celle-ci en conformité avec la réglementation de l'Union européenne.

Compte tenu des pratiques constatées en élevage et des signalements d'absence de poussa effectués en 2014, la réglementation (les arrêtés de lutte) pourrait être modifiée en liant la réalisation de prélèvements de confirmation à l'engagement de l'exploitant de ne pas recourir à des agents interférents pendant la période de prélèvements.

## II) Autres questions liées à l'efficacité des plans de lutte officiels

### 5) dépistage à partir des eaux de lavage

Certains opérateurs pratiquent un dépistage sous forme d'autocontrôle à partir des eaux de lavage lors du vide technique (essentiellement aux étages sélection et multiplication).

La question est d'étudier l'intérêt et la faisabilité d'un tel dépistage.

En cas de réponse positive il conviendrait d'établir un mode opératoire facilement reproductible. De tels prélèvements seraient destinés aux contrôles officiels effectués par les agents des DDPP, voire par les vétérinaires sanitaires, dans des circonstances particulières (par exemple dans les départements éprouvant des difficultés à assainir leurs élevages).

Cette méthode de dépistage présenterait l'avantage d'être sensible et d'éviter une interruption de production en cas de positivité puisque les prélèvements seraient effectués pendant le vide technique.

### 6) dépistage à l'éclosion des troupeaux reproducteurs : validation

En France, le dépistage des troupeaux reproducteurs de l'espèce *Gallus gallus* s'effectue principalement au couvoir au moment de l'éclosion, au lieu des prélèvements habituellement réalisés en élevage. Cette disposition a été prise à la demande d'une partie des professionnels (SNA).

La réglementation (AM lutte du 26 février 2008) autorise trois types de prélèvements à l'éclosoir : les garnitures de paniers d'éclosoir, les coquilles d'œufs brisés ou les chiffonnettes (immédiatement après l'enlèvement des poussins, ou, par dérogation, au début de la journée d'éclosion). La troisième possibilité est fréquemment retenue, à la place des garnitures de paniers d'éclosoir, les chiffonnettes étant souvent passées au cours de la journée précédant l'éclosion complète. La deuxième possibilité est rarement utilisée.

La question porte essentiellement sur le choix du type de prélèvement à privilégier, voire sur la nécessité d'en écarter certain(s). Par exemple, les garnitures de paniers d'éclosoir sont réputées pour être sensibles et plus spécifiques, permettant d'identifier avec davantage de précision les parquets contaminés. En revanche, les chiffonnettes sont souvent effectuées dans des conditions difficiles à contrôler et sans cibler la totalité des parquets comme l'impose la réglementation.

### 7) maintien de l'autorisation de vacciner à l'étage multiplication de la filière chair

Compte tenu de l'augmentation des suspicions (APMS), le plus souvent non confirmées, et du caractère stratégique d'un assainissement durable et complet de cet étage, la question est de savoir s'il ne conviendrait pas de supprimer purement et simplement la possibilité de vacciner.

Il s'agirait de recourir à une prophylaxie strictement sanitaire afin d'assainir définitivement les bâtiments contaminés, même faiblement, ce sujet étant lié à la question 6).

Je vous serais reconnaissant de traiter en priorité la première partie (partie I) de la saisine, en particulier la première question, afin de disposer d'éléments de réponse à la fin de l'année 2015 ou au début de l'année 2016.

La deuxième partie présente un caractère moins urgent et s'inscrit davantage dans le cadre d'une réflexion à moyen terme avec une réponse plus tardive au cours du premier semestre 2016.

## ANNEXE 2.2

### Eléments descriptifs sur les actes de suspicion et de confirmation d'infection par les salmonelles des troupeaux de volailles en France en 2014

#### 1. DONNEES TRANSMISES PAR LA DGAL

Fichier excel en date du 03/06/2015 comprenant les résultats de contrôles (officiels ou obligatoires) positifs ayant fait l'objet d'une prise APMS ainsi que les APDI directs, du 01/01/2014 au 31/12/2014 pour les filières 1/Gallus chair, étages futurs reproducteurs et reproducteurs, 2/Gallus œufs de consommation, étages multiplication-reproduction, futures pondeuses et pondeuses, 3/ Dinde, étages futurs reproducteurs et reproducteurs. L'ensemble des données est extrait de SIGAL.

#### 2. ELEMENTS DESCRIPTIFS SUR LES PRISES D'APMS ET D'APDI EN 2014

##### 2.1. Récapitulatif des actes d'APMS et APDI

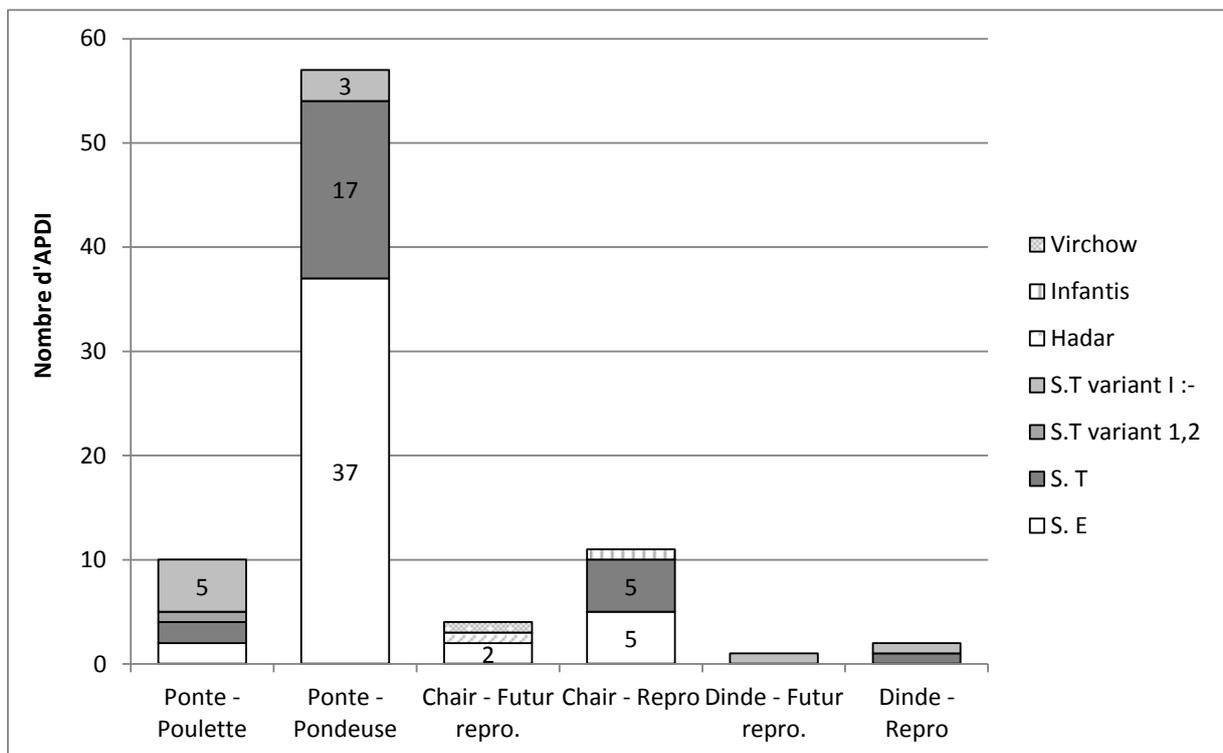
Tableau 1 : AMPS/APDI en 2014 en fonction de la filière et de l'étage de production (194 actes reportés)

	PONTE O.C			CHAIR		DINDE	
	Multiplication	Future pondeuse	Pondeuse	Futur repro.	Repro.	Futur repro.	Repro.
APMS	7	22	81	15	45	1	5
<i>Dépistage</i>	1	19	66	7	14	1	5
<i>Lien épidémio</i>		3	12	7	11		
<i>TIAC</i>			3				
<i>Alerte couvoir</i>	4				15		
<i>Autre</i>	2			1	5		
APDI après APMS		11 (50%)	41 (51%)	4(27%)	9 (20%)	1	3
APDI prise directe			16		2		
Non confirmé	7	11	40	11	36		2
S. E		7	53 <sup>a</sup>	10	23		2
S. T		8	37 <sup>a</sup>	3	18		1
S. T variant 1,2		1	1				
S. T variant i :-		6	6		3	1	1
S. Virchow				1	2		
S. Hadar				1			
S. Infantis					1		
Non renseigné			1				
Charte sanitaire							
oui	7	12	47	15	35	1	4
non		9	43		9		1
retirée			7				
Vaccination	<i>Sans objet</i>						
oui		1	19		10		
non			40				
non renseigné		21	38	15	37	1	5
Département <sup>b</sup>							
26	2	7	17	1	2		2
22		4	7	2	5		
72	2		1	1	8		1
85			3	8			
973		2	10				
59		1	2		7		
974		2	3		4		
56		2	3	2		1	1
62	1	1	5		1		
11			6		4		1
79					6		
autres	3	3	40	1	10		

<sup>a</sup> Un élevage positif à S.E et S. T simultanément <sup>b</sup> Les départements listés comptabilisent plus de 3% des actes

- 13 cas d'APMS/APDI concernaient des poulaillers ayant un antécédent de contamination reporté dans les 3 dernières années.
- Dans la filière ponte d'œufs de consommation (O. C), à l'étage des futures pondeuses, les signalements ont concerné 5 poulaillers en cages (2 confirmations), 13 au sol (dont 8 confirmés) et 4 pour lesquels le mode de logement n'était pas précisé (1 confirmation).
- Dans la filière ponte O. C à l'étage des pondeuses, 15 signalements portaient sur des troupes en cages (dont 5 APDI directs), un troupeau en volière et 81 sur des troupes au sol (11 APDI directs) avec, pour 69 d'entre eux, un accès à un parcours extérieur signalé dans SIGAL. Cinq des 10 (50%) suspicions en cages ont été confirmées et 36 des 71 cas suspectés (51%) en systèmes alternatifs ont fait l'objet d'un APDI.
- Sur 87 APDI, 48 ont été justifiés par la détection de S. E (54%), 26 de S. T (29%), 10 du variant S. T i :- (11%) et 1 pour le variant S. T 1,2 (Figure 1). Les sérotypes Infantis, Virchow et Hadar ont été isolés une fois.
- Le statut vaccinal des troupes de reproducteurs chair et dinde et de pondeuses n'est qu'imparfaitement reporté. A l'étage production d'œuf de consommation, 16 suspicions ont porté sur des troupes vaccinés dont 6 ont été confirmées (37%). Trente-trois APMS ont porté sur des troupes non vaccinés avec par la suite 15 APDI (45%).

Figure 1 : Sérotypes isolés dans 87 APDI en 2014 selon les filières et les étages



NB : Pour un troupeau de pondeuse, positivité à S. E et S. T simultanément.

## 2.2. Bâtiments ayant connu plusieurs signalements (APMS ou APDI direct) en 2014

Treize poulaillers ont présenté deux APMS ou APDI directs en 2014. Il s'agit pour certains de situations épidémiologiques particulières :

- Cinq poulaillers de pondeuses situés sur la même exploitation ont connu une suspicion S.T puis une contamination S. E.
- Quatre poulaillers de futurs reproducteurs chair d'une exploitation ont connu une 1<sup>ère</sup> suspicion à S. E qui n'a pas été confirmée puis une nouvelle suspicion S. E six mois plus tard qui fut confirmée dans un poulailler.

Les autres cas concernent un poulailler de ponte, un poulailler de multiplication filière ponte et deux ateliers de reproducteurs chair situés sur des exploitations différentes.

### 2.3. Origine des APMS

En 2014, 176 prises d'APMS ont été reportées dans SIGAL :

- 113 APMS ont fait suite à un dépistage positif (obligatoire ou officiel) sur troupeau ou fond de boîte.
- 19 APMS dans des élevages reproducteurs ou multiplicateurs ont fait suite à une alerte au couvoir.
- 33 APMS ont été pris à cause d'un lien épidémiologique direct établi avec un autre cas de contamination salmonellique.
- Trois APMS ont fait suite à une TIAC, deux ont été pris sur une contamination détectée dans un camion de livraison, deux sur la base d'un autocontrôle positif sur des troupeaux de reproducteurs, deux pour des pédichiffonnettes sur abords du poulailler positives, un sur la positivité d'eau de lavage de poulailler de reproducteurs et un sur une contamination hépatique de volailles reproductrices contrôlées avant export. Seule une de ces suspicions, liée à une TIAC, a été confirmée.

Pour les principales origines d'APMS, le taux de confirmation de la suspicion varie (tableau 2). Il est plus élevé pour les suspicions ayant pour origine un dépistage obligatoire ou officiel que pour celles prises en fonction d'un lien épidémiologique ou suite à une alerte en couvoir. Il est à noter que pour douze APMS pris sur des résultats de dépistage positif, un lien épidémiologique a aussi été identifié avec un autre poulailler de la même exploitation ou de la même entreprise. On constate donc que les suspicions issues d'éléments épidémiologiques indirects (positivité couvoir, relation épidémiologique avec un autre cas) sont plus rarement confirmées que les suspicions directes sur résultat de dépistage positif.

Tableau 2 : Taux de confirmation de la suspicion selon l'origine de l'APMS (N=165 APMS, 68 APDI)

Origine APMS	Nombre	Nombre de confirmation	Taux de confirmation
Dépistage obligatoire ou officiel	113	57	51%
<i>Dont cas présentant un lien</i>	12	7	
Lien épidémiologique	33	10	30%
Alerte couvoir	19	1	5%

### CONFIRMATION DES APMS SUITE A DES DEPISTAGES OBLIGATOIRES OU OFFICIELS A L'ELEVAGE

Sur les 113 APMS considérés, un cas n'a pas fait l'objet de prélèvement de confirmation reporté dans SIGAL et trois cas n'ont pas d'information sur les prélèvements de confirmation. Le tableau 3 présente les résultats de confirmation par filière et étage de production pour les 109 APMS restant. Le taux de confirmation des suspicions à S. E est de 55% (28/51), de 43% pour S.T (16/37) et 53% pour le variant S.T i :- (9/17).

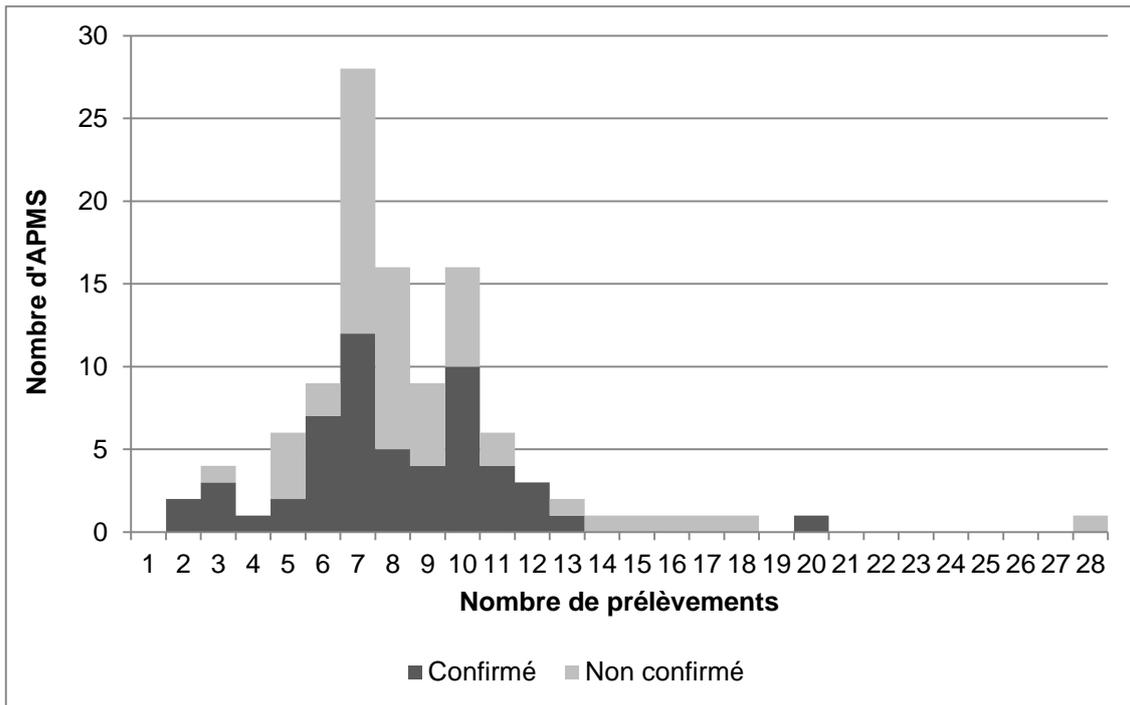
Tableau 3 : Taux de confirmation par filière et étage de production pour 109 APMS avec des commémoratifs de prélèvements de confirmation renseignés en 2014

		Nombre APMS	Nombre APDI	Taux de confirmation %
PONTE O. C	Multiplication	1	0	
	Future pondeuse	19	10	53
	Pondeuse	62	31	50
CHAIR	Futur repro	7	4	
	Repro	14	6	43
DINDE	Futur repro	1	1	
	Repro	5	3	
TOTAL		109	55	50

Pour 104 de ces APMS, on dispose également sous SIGAL du détail des prélèvements ayant mené à la suspicion. On remarque que les APMS sont moins fréquemment confirmés lorsqu'un seul prélèvement officiel à l'origine de la suspicion est positif (32 cas confirmés sur 79, 40%) que quand plusieurs prélèvements sont contaminés à la suspicion (21 cas confirmés sur 25, 84%,  $p=0,001$ ). Les suspicions portant sur une contamination apparemment plus importante sont donc plus facilement confirmées.

Quarante-sept APMS (sur 109, 43%) ont été confirmés lors de la 1<sup>ère</sup> série de prélèvements. Le nombre de prélèvements effectués pour la 1<sup>ère</sup> confirmation varie de 2 à 28 (Figure 2). Il n'y a pas de relation entre le nombre de prélèvements réalisés en 1<sup>ère</sup> confirmation et le résultat de cette confirmation.

Figure 2 : Nombre d'APMS confirmés et non confirmés en fonction du nombre de prélèvements réalisés pour la 1<sup>ère</sup> série de confirmation (N=109 APMS)



La 1<sup>ère</sup> série de confirmation comprend dans 99% des séries au moins une chiffonnette et 90% au moins une pédichiffonnette (Tableau 4). Dans 96 APMS (89%), les deux types de prélèvements ont donc été faits. Vingt-et-une contaminations ont été confirmées sur la base de la positivité de pédichiffonnette uniquement et quatre contaminations ont été confirmées sur chiffonnette uniquement. L'association des deux prélèvements semble donc pertinente pour augmenter la probabilité de confirmer la suspicion. Plus particulièrement, 45% des cas confirmés en 1<sup>ère</sup> série n'auraient pas été détectée en l'absence de pédichiffonnette. Des œufs ont été prélevés dans un tiers des élevages de ponte concernés. Deux échantillons d'œufs sur 20 étaient positifs (10%) ; ces contaminations ont été par ailleurs détectées sur les chiffonnettes et sur les pédichiffonnettes réalisées.

Tableau 4 : Résultats de contamination selon les matrices prélevées en 1<sup>ère</sup> série de confirmation (108 APMS renseignés)

		Pédichiffonnette		
		Pas de pédichif.	Négatif	Positif
Chiffonnette	Pas de chiffonnette		0	1
	Négatif	7	54	<b>21</b>
	Positif	4	4	17

Parmi les 62 cas non confirmés en 1<sup>ère</sup> série, 58 (93%) ont fait l'objet d'une nouvelle série de prélèvements de confirmation renseignée dans SIGAL. Huit cas supplémentaires (8/58, 14%) ont été détectés par ces nouvelles analyses. Sur les 55 APDI étudiés, huit ont été confirmés en deuxième série, ce qui montre que la 2<sup>ème</sup> série de prélèvements est à l'origine de 15% des confirmations.

Le détail des prélèvements de 2<sup>ème</sup> confirmation est connu pour 57 actes (Tableau 5). Des chiffonnettes ont été prélevées dans 96% des séries et des pédichiffonnettes dans 86 % des cas. De nouveau, on constate la complémentarité des deux modes de prélèvements : trois cas ont été identifiés sur la base de pédichiffonnettes positives uniquement (chiffonnettes négatives) et un cas a été confirmé grâce aux chiffonnettes positives (pédichiffonnettes négatives).

Tableau 5 : Résultats de contamination selon les matrices prélevées en 2<sup>ème</sup> série de confirmation (57 APMS)

		Pédichiffonnette		
		Pas de pédichif.	Négatif	Positif
Chiffonnette	Pas de chiffonnette	2*		
	Négatif	4	43	<b>3</b>
	Positif	2	<b>1</b>	2

\*1 cas avec 60 volailles prélevées et 1 cas avec 60 fientes prélevées

## CONCLUSIONS

- Le dépistage (obligatoire ou officiel) sur troupeau est la principale source de suspicion d'infection, puis de confirmation, ces prélèvements étant plus fréquents que les autres modalités de surveillance.
- On note néanmoins la proportion importante de suspicions faisant suite à une « alerte couvoir » ou en liaison épidémiologique avec des cas avérés d'infection en 2014, témoignant de situations épidémiologiques particulières.
- Les suspicions aux étages multiplication-ponte et reproducteurs-chair ont été rarement confirmées. Le taux de confirmation ne semble pas varier selon les sérovars. Il varie selon l'origine de la suspicion : les APMS suivant une alerte au couvoir ou, dans une moindre mesure, suite à un lien épidémiologique avec un cas, sont moins fréquemment confirmés que les suspicions issues d'un dépistage positif sur troupeau.
- Les APMS suite à un dépistage positif sont plus fréquemment confirmés lorsque plusieurs prélèvements de dépistage étaient positifs à la suspicion.
- Concernant les APMS suite à un dépistage positif, les pédichiffonnettes et les chiffonnettes sont des matrices de prélèvements complémentaires pour améliorer la détection de l'infection.
- Pour les troupeaux de poules pondeuses, le prélèvement d'œufs pour confirmation de l'infection n'améliorerait pas la détection de l'infection mais peut répondre à un objectif d'évaluation du risque pour les consommateurs.

## ANNEXE 2.3

### ABSENCE DE POUSSE SUR PRELEVEMENTS DE DEPISTAGE OBLIGATOIRE OU OFFICIEL ET SUR PRELEVEMENTS DE CONFIRMATION EN 2014

#### 1. Contexte

Les laboratoires agréés et/ou reconnus pour les programmes de lutte contre les salmonelles dans les filières avicoles doivent reporter au préfet (DD(CS)PP) du lieu d'implantation du poulailler contrôlé la survenue de prélèvements non conformes, ce qui comprend la survenue de « culture stérile » (Arrêtés de lutte officiels 2008, 2009 et 2013). D'un point de vue analytique, le terme « culture stérile » correspond à l'observation d'un milieu de pré-enrichissement anormalement clair et/ou l'absence de culture sur milieu sélectif (ou sur les deux milieux sélectifs). Afin d'harmoniser le report de ces non conformités généralement appelées « absence de pousse », une note de travail a été diffusée via l'ADILVA et l'AFLAB aux laboratoires agréés et reconnus en 2013. Ces absences de pousse sont à reporter sur le rapport d'analyse et dans SIGAL, qu'ils surviennent sur prélèvements de dépistage obligatoire, officiel (complémentaire) ou de confirmation ; les cas d'absence de pousses sur prélèvements après nettoyage et désinfection ou sur organes ne sont pas à prendre en compte puisqu'ils ne peuvent être considérés comme anormaux. Dans la mesure où aucune note de service ne précise la procédure de notification dans SIGAL des absences de pousses, il n'y a pas encore d'harmonisation de ces notifications au niveau national. Il est aussi indiqué par la DGAL que le report dans SIGAL n'est pas exhaustif actuellement.

#### 2. Élément transmis par la DGAL

Fichier excel contenant les données extraites de SIGAL sur les « absences de pousse » en 2014 reportés sur les prélèvements obligatoires, les prélèvements complémentaires et les prélèvements de confirmation. Les signalements comprennent le mois du report et le nombre de prélèvements en absence de pousse sur une série mais pas les résultats des autres échantillons prélevés en même temps, s'il y en avait. Cette information est disponible seulement pour les absences de pousse survenues en confirmation, par recoupement avec d'autres données transmises par la DGAL. La DGAL n'a pas été en mesure de préciser le taux de couverture des reports dans SIGAL par rapport à l'ensemble du réseau de laboratoires agréés et reconnus.

#### 3. Éléments descriptifs concernant les « absences de pousse »

- 159 absences de pousse ont été reportées en 2014 par 10 laboratoires dont 80 par le LPR85 (50%) et 59 par le LPR261 (37%). Il est difficile d'analyser ces résultats car le report des absences de pousse dépend des laboratoires.
- Les absences de pousse ont été reportées pour 148 prélèvements de dépistage obligatoire (93% des cas d'absence répertoriés), 8 pour des prélèvements complémentaires (5%) et 3 pour des prélèvements de confirmation (2%).
- Les étages production des filières ponte et chair sont les plus représentés dans les reports d'absence de pousse puisqu'ils génèrent aussi le plus de prélèvements (fort volume de production) (Figure 1).
- Les matrices concernées par les absences de pousse sont très majoritairement des chiffonnettes et / ou pédichiffonnettes. Ce sont en effet les matrices les plus utilisées pour les contrôles. On note 2 absences de pousse sur des fonds de boîte en futur reproducteur ponte et en poulette.
- Les 148 absences de pousses sur dépistage obligatoire (délégué à l'opérateur) sont observées sur 68 exploitations différentes, 25 de ces exploitations représentent 64% (95) de ces absences de pousses.
- Vingt-trois bâtiments sur 13 exploitations (3 fermes de ponte, 9 fermes de volailles de chair et 1 ferme de poulettes) ont fait l'objet de plusieurs reports d'absence de pousse en 2014, tous sur dépistage obligatoire. Pour 17 de ces poulaillers situés sur 13 exploitations, il a pu être établi que ces absences de pousse ont été détectées sur plusieurs actes de dépistage différents et non sur un seul acte (Figure 2).

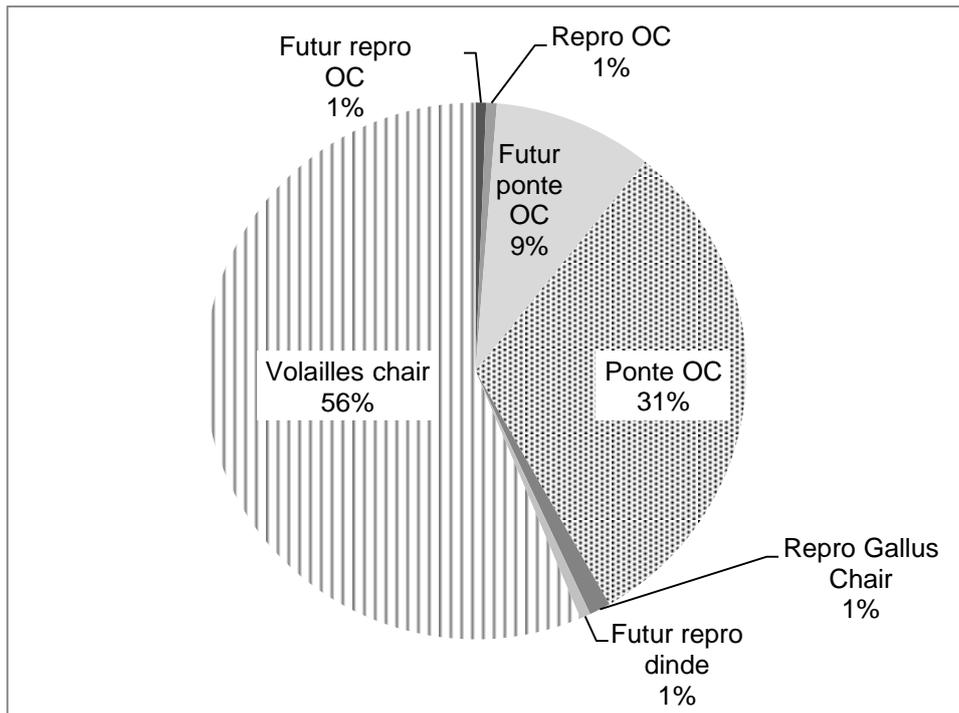


Figure 1 : Répartition des absences de poules reportées sur prélèvements de dépistage ou de confirmation en fonction des filières et des étages de production en 2014 (159 reports par 10 laboratoires reconnus/agrèés)

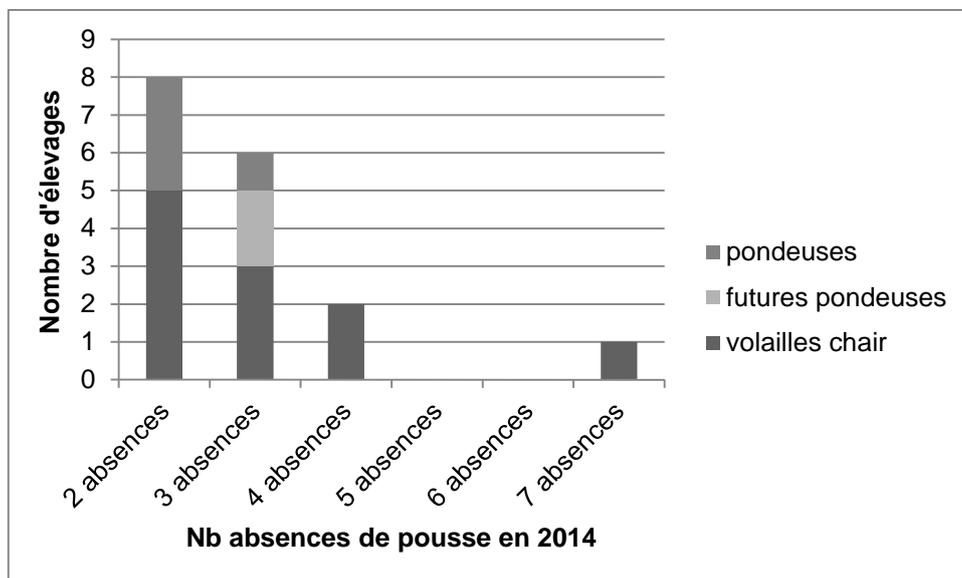


Figure 2 : Nombre de poulaillers ayant fait l'objet de plusieurs reports successifs d'absence de poule sur dépistage obligatoire dans SIGAL en 2014

#### **4. ABSENCE DE POUSSE EN PRELEVEMENTS DE CONFIRMATION**

Trois cas d'absence de pousse en 2014 ont porté sur des prélèvements de confirmation :

- 1 cas en pondeuses : trois chiffonnettes sur 4 reportées en absence de pousse lors de la première confirmation. Tous les autres prélèvements (1 chiffonnette et 4 pédichiffonnettes) sont négatifs. La deuxième série de confirmation n'a pas permis de détecter la contamination, l'APMS a été levé.
- 1 cas en poulettes : 1 pédichiffonnette et 1 chiffonnette en absence de pousse lors de la 1<sup>ère</sup> série de confirmation ; les autres prélèvements sont négatifs. La contamination n'a pas été confirmée et l'APMS a été levé.
- 1 absence de pousse en futurs reproducteurs dinde : 1 absence de pousse sur pédichiffonnette lors de la confirmation mais 3 pédichiffonnettes et 4 chiffonnettes positives en même temps. La contamination a donc été confirmée.

Les absences de pousse lors des prélèvements de confirmation ont donc eu un impact variable sur le dépistage, pouvant compromettre la confirmation de la contamination. En 2014, 176 APMS ont été pris tous filières et étages confondus ; les absences de pousse ont donc *a minima* concerné 3 de ces APMS (1,7%). Il est possible que d'autres absences de pousse soient survenues lors de prélèvements de confirmation, le report dans SIGAL étant incomplet en 2014. Hormis ces 3 élevages, aucun autre atelier (toutes filières et étages confondus) mis sous APMS-APDI en 2014 n'a fait l'objet d'un report d'absence de pousse.

#### **5. CONCLUSIONS**

- Afin d'assurer une surveillance des absences de pousse, il est nécessaire de s'assurer du report systématique de leur occurrence par les laboratoires dans SIGAL.
- En l'absence de donnée sur l'exhaustivité des reports d'absences de pousse dans SIGAL, il est impossible d'en analyser l'occurrence par filière ou par zone géographique en 2014.
- Il existe des exploitations / poulaillers pour lesquels plusieurs séries de prélèvements de dépistage obligatoire ont présenté des absences de pousse en 2014.
- Trois absences de pousse ont été reportées sur des prélèvements de confirmation avec, pour deux cas, non confirmation de la contamination.