

Evolution et maîtrise des contaminations des lisiers bovins par les salmonelles

J. MARLY (1), A. VALLET (2), P. PARDON (1)

(1) Pathologie Infectieuse et Immunologie, INRA, Centre de Tours, 37380 Nouzilly.

(2) Institut de l'Elevage, 6 rue de Lourdes, 58000 Nevers.

RESUME – L'épandage de lisiers provenant de troupeaux infectés par des salmonelles contamine les surfaces à vocation agronomique et les eaux.

Nous avons étudié la survie d'une souche de *Salmonella typhimurium* marquée dans un lisier de bovins et testé l'effet de divers produits, principalement l'urée et la cyanamide calcique sur cette survie :

- au laboratoire sous de faibles volumes (261 ml) à différentes températures .
- en colonnes creuses (1,5 m de hauteur, 200 l et température ambiante) dans des conditions plus proches de celles du terrain .

Dans des élevages bovins atteints de salmonellose clinique nous avons suivi l'évolution de la contamination salmonellique des lisiers et testé l'effet de la cyanamide calcique.

Au laboratoire, à 15°C, *Salmonella typhimurium* devient spontanément et progressivement indétectable en 9 semaines dans un lisier expérimentalement contaminé par 10⁶ *Salmonella* par ml. A 20°C, cette disparition est obtenue en 7 semaines. Deux des produits testés permettent de raccourcir ce délai à 3 semaines (urée) et à moins de 2 semaines (cyanamide calcique).

En colonnes, la concentration en salmonelles ne varie pas suivant la profondeur du prélèvement (pas d'effet strates) dans le lisier expérimentalement contaminé. L'urée est efficace à la même concentration qu'au laboratoire. En revanche la cyanamide calcique nécessite une agitation et une concentration plus grande qu'au laboratoire. Dans les exploitations contaminées la disparition des salmonelles est obtenue en trois à quatre semaines en mélangeant la cyanamide calcique à une concentration de 4,5 kg par m³.

Evolution and control of *Salmonella* contamination in cattle slurry

J. MARLY (1), A. VALLET (2), P. PARDON (1)

(1) Pathologie Infectieuse et Immunologie, INRA, Centre de Tours, 37380 Nouzilly.

SUMMARY – Spreading of animal slurry from herds infected with *Salmonella* leads to the contamination of agricultural land and water-courses. We studied the survival of a marked strain of *Salmonella typhimurium* in cattle slurry and tested the effect of chemical compounds on this survival. In laboratory conditions (10⁶ *Salmonella* per ml in units of 200 ml) at 15°C, the salmonella became undetectable in 9 weeks after experimental contamination. At 20°C, this spontaneous extinction was obtained after 7 weeks. At 15°C the extinction time was reduced to 3 weeks with urea and to less than 2 weeks with calcium cyanamide.

In columns of slurry (1,5 m high, 200 l, ambient temperature, dispersion of the inoculum by mechanical agitation), the evolution of the *Salmonella* colonization remained similar at all levels of the column. The effect of the two compounds observed in small volumes was reproduced, but a higher concentration of calcium cyanamide was needed to obtain a similar effect.

In naturally contaminated slurries, the *Salmonella* extinction was obtained in 3 to 4 weeks in spring with calcium cyanamide at 4,5 kg per m³ and initial mixing.

INTRODUCTION

La plupart des salmonelles sont pathogènes pour l'homme et les animaux, en particulier les animaux d'élevage (bovins, ovins, porcins, volailles). Après un épisode infectieux clinique ou une infection subclinique, des animaux restent porteurs de salmonelles. Les salmonelles excrétées contaminent les effluents d'élevage. Elles survivent dans les lisiers parfois jusqu'à 7 mois (Strauch, 1991). Les lisiers sont dispersés comme fertilisants sur les surfaces agricoles contaminant ainsi les sols, les pâtures, les

eaux de ruissellement et le réseau hydrologique. Plommet et Plommet (1974) ont déjà proposé un mode de décontamination des lisiers par le xylène ; Ley et Böhm (1993) préconisent l'utilisation de la cyanamide calcique à une concentration de 10 ou 20 kg par m³. Nous avons cherché un procédé de meilleure acceptabilité et peu coûteux.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La souche de *Salmonella typhimurium* (sérotype le plus largement répandu) est résistante à la streptomycine (100mg/l) et à l'acide

Figure 1
Influence de la température de conservation du lisier sur la survie des salmonelles.

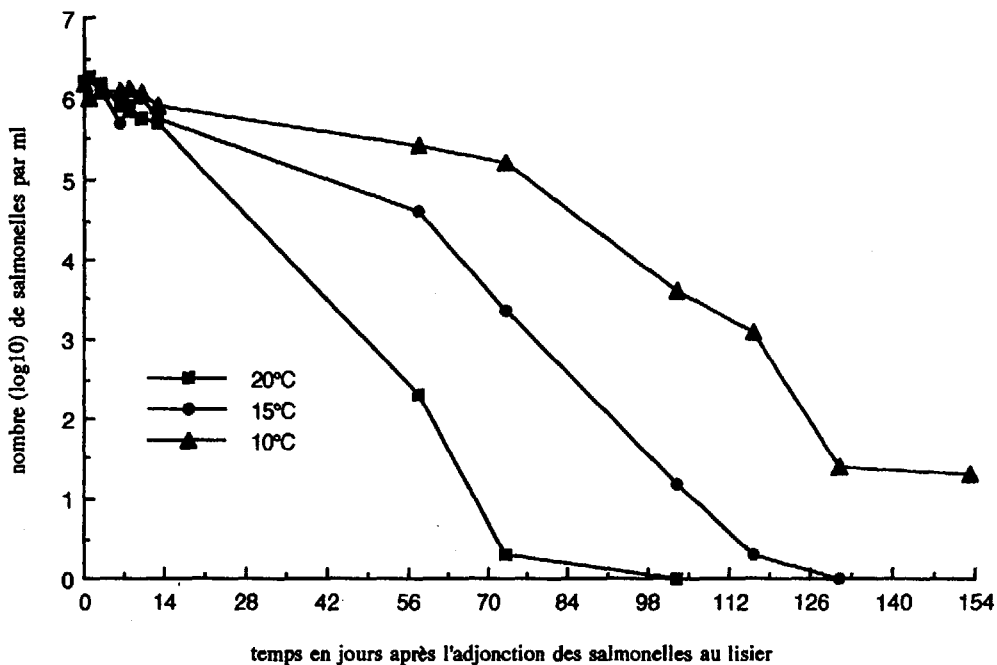


Figure 2
Effet de la profondeur de prélèvement sur la concentration en salmonelles.

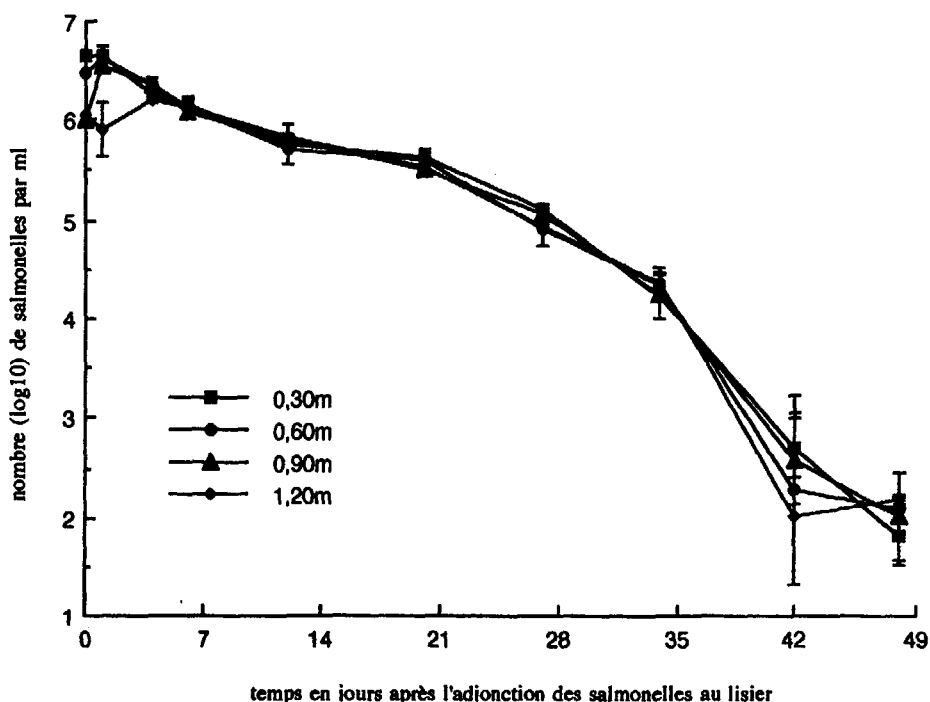


Figure 3

Accélération de la décroissance des salmonelles par l'urée (produit A) ou la cyanamide calcique (produit B).

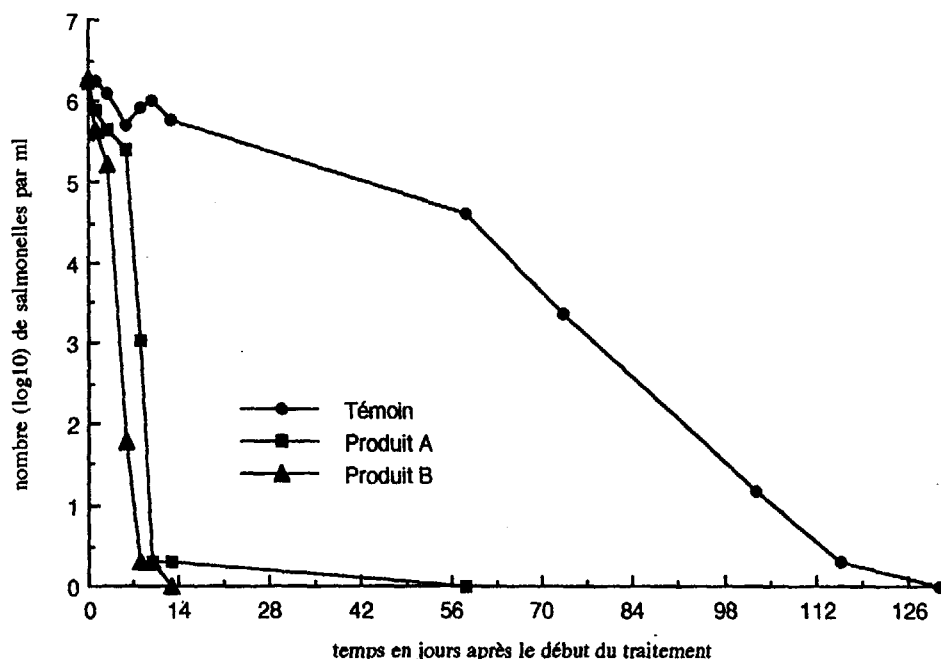
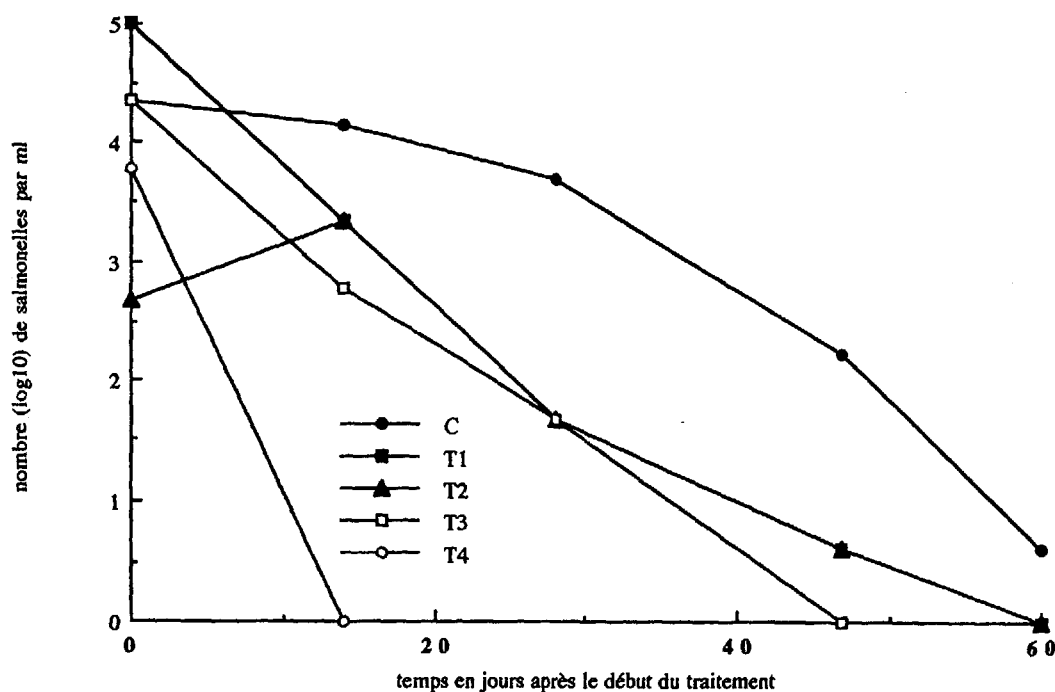


Figure 4

Décontamination de lisiers contaminés en exploitations.



nalidixique (100mg/l). Ces marqueurs permettent de dénombrer facilement cette souche dans des échantillons très contaminés sur un milieu Salmonella-Shigella contenant ces antibiotiques utilisés comme sélecteurs.

Un lisier bovin standard (pH 7 à 7,3 et à 7 % de matière sèche) est obtenu à partir des déjections de génisses hébergées dans un bâtiment isolé non climatisé et nourries avec de l'ensilage d'herbe tout au long de l'expérimentation. Les suspensions de salmonelles sont ajoutées au lisier et dispersées par agitation.

Des flacons de 200 ml contenant du lisier sont conservés à 10°C, 15°C et 20°C dans des étuves réfrigérées thermostatées. Des colonnes de 200 litres sont réalisées en rehausses de béton de 50 cm de diamètre et 40 cm de hauteur et doublées à l'intérieur de 2 sacs étanches en polyéthylène. Dans ces colonnes sont disposées des sondes d'acier inoxydable d'un diamètre de 6 mm disposées en croix (2 ou 4 à chaque profondeur) permettant la prise d'échantillon. Ces colonnes sont placées à proximité des bovins dans un bâtiment spécifique.

RÉSULTATS

Dans le lisier bovin standard placé en flacons de 200 ml, la durée de survie de la souche de *Salmonella typhimurium* marquée varie en fonction de la température de stockage. Cette souche survit environ 70 jours (2 mois) à 20°C. Cette durée de survie augmente si la température de stockage diminue. A 15°C, les salmonelles ne sont plus détectables 130 jours (4 mois) après le début du stockage alors qu'à 10°C la survie se prolonge au delà de 154 jours (figure 1). Une observation similaire a été faite en suivant la survie dans les colonnes de stockage à des températures qui variaient selon la saison. La durée de survie de la souche était plus courte en été (température de 20 à 25°C) qu'en début de printemps (15 à 18°C).

En élevage, une croûte se forme en surface des fosses à lisier et une sédimentation se produit. Ainsi sur la hauteur d'une colonne un gradient de matière sèche s'établit. Dans nos colonnes de 1,50 m de hauteur, les concentrations en salmonelles viables ont été mesurées à 4 profondeurs et à différents temps après contamination et homogénéisation.

Les nombres de salmonelles sont comparables quelle que soit la profondeur à laquelle le prélèvement est effectué (figure 2).

Après avoir observé au laboratoire et en colonnes l'influence de la température et de la profondeur, nous avons testé, à une température constante de 15°C, au laboratoire, et sous des volumes de 200 ml, l'influence de différents produits sur la survie de *Salmonella typhimurium*. Deux produits (A : urée, B : cyanami-

de calcique) ont permis d'accélérer de façon notable la décontamination spontanée du lisier (figure 3). Dans des conditions qui permettent la détection des salmonelles pendant environ 4 mois, l'urée (0,6 % poids/volume) permet la disparition des salmonelles détectables en trois semaines. La cyanamide calcique employée à 0,3 % donne le même résultat en deux semaines. Les deux produits ont été testés en colonnes de 200 l avec ou sans agitation. L'urée est efficace à la même concentration qu'en flacons de 200 ml. La cyanamide calcique demande, pour aboutir à la même efficacité, une concentration et une agitation plus importantes. Au printemps, dans les lisiers naturellement contaminés, la disparition des salmonelles a pu être obtenue en trois à quatre semaines avec un apport de 4,5 kg de cyanamide calcique par m³. La décroissance est plus lente dans le lisier contrôle(c) que dans les lisiers traités par la cyanamide calcique (T1, T2, T3, T4) (figure 4).

CONCLUSION

A la saison froide, les salmonelles peuvent persister sur de longues périodes dans les fosses qui restent contaminées même sans apport continu de lisier. L'urée et la cyanamide calcique sont des produits de décontamination actifs, inodores et peu coûteux. Cependant l'utilisation de ces substances devrait être réservée aux cas de décontamination d'urgence, le facteur naturel de décontamination restant le temps de stockage.

Ce travail a été réalisé en collaboration avec l'Institut de l'Élevage, initié par J. F. Rousseau et financé en partie par un contrat ACTA.

RÉFÉRENCES

- LEY T. und BOHM R., 1993. Desinfektion und Rindergülle - unter Berücksichtigung von *Salmonella dublin* und *Mycobacterium paratuberculosis*. *Tierärztliche Umschau*, **48**, 742-750.
- PLOMMET Anne-Marie et PLOMMET M., 1974. Destruction par le xylène de diverses bactéries pathogènes dans le lisier de bovins (1). *Annales de Recherches Vétérinaires*, **5** (2), 213-221.
- STRAUCH D., 1991. Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. *Revue Scientifique et Technique de l'office International des Epizooties*, **10**, 813-845.