

**LP COMESA - Promotion 2010**  
*Conseiller en maîtrise de l'énergie dans le secteur agricole*

**La méthanisation en zones AOC Savoyardes**

*Connaissance et maîtrise des aspects sanitaires  
liés à l'épandage de digestat*



*Etude réalisée par : Mylène Besson*  
*Maître de stage professionnel : René Moletta*

# Sommaire

Pagination non valable

## Partie 1 : Les dispositifs réglementaires liés à l'épandage de digestat

I- Cadre général et définitions .....	1
1- Caractérisation du digestat .....	6
A- Logique « produit » .....	6
B- Logique « déchet » .....	6
C- Procédure de retour au sol .....	7
2- Déchet .....	7
A- Déchet organique .....	8
B- Différentes catégories de déchets de sous produits animaux .....	8
a- Déchets de catégorie 2 .....	8
b- Déchets de catégorie 3 .....	9
3- Régimes sanitaires des installations de méthanisation .....	9
A- Rubrique 2781-1 .....	10
B- Rubrique 2781-2 .....	10
II- Obligations administratives liées à l'épandage du digestat .....	10
1- Enregistrement des sorties du digesteur .....	10
2- Etude préalable à l'épandage .....	10
3- Plan d'épandage .....	10
III- Règles d'épandage du digestat .....	11
1- Interdiction d'épandage .....	11
2- Distance d'épandage .....	11
3- Délais d'épandage .....	12
IV- Règles sanitaires d'épandage du digestat .....	12
1- Teneur en agents pathogènes : digestat hygiénisé .....	12
2- Teneur en micro-polluants .....	13
A- Teneurs limites en éléments traces métalliques : ETM .....	13
B- Teneurs limites en composés traces organiques : CTO .....	14

## Partie 2 : Les micro-organismes pathogènes et leur réduction

I- Les micro-organismes pathogènes et leurs indicateurs .....	15
1- Les micro-organismes et leurs impacts .....	15
A- Les bactéries .....	15
a- Généralités .....	15
b- Classification des bactéries à risque d'infection pour l'homme .....	15
c- Exemples de bactéries pathogènes .....	15
d- Survie des bactéries dans le sol .....	17
B- Les virus .....	17
a- Généralité .....	17
b- Exemple de virus : les Entérovirus .....	17
C- Les parasites .....	17
a- Les Helminthes .....	17
b- Les Protozoaires .....	17
2- Les micro-organismes indicateurs .....	17
A- Les germes indicateurs de bactéries .....	18
B- Les germes indicateurs de virus .....	19
II- Micro-organismes présents dans les éventuels intrants du digesteur .....	19

1-Effluent d'élevage .....	19
A-Bovin .....	19
B-Porcin .....	20
C-Espèces pathogènes les plus présentes dans les effluents d'élevage.....	20
2-Boues de stations d'épuration .....	20
3-Déchets organiques ménagers .....	21
III-La digestion anaérobie : facteurs intervenants sur la réduction des agents pathogènes .....	21
1- Facteurs intervenants sur la réduction des pathogènes pendant la digestion anaérobie mésophile .....	22
2- Facteurs intervenants sur la réduction des pathogènes pendant la digestion anaérobie thermophile.....	22
IV-Méthodes complémentaires utilisées pour réduire les micro-organismes pathogènes .....	22
1-Pré-traitements utilisés pour réduire les agents pathogènes .....	23
A-Pasteurisation .....	23
B-Traitement thermique à haute température : exemple du procédé Cambi.....	24
2-Post traitements utilisés pour réduire les agents pathogènes .....	24
A-Traitement aérobie (compostage).....	24
B-Traitement à la chaux (chaulage) .....	25
V-Réduction des micro-organismes pathogènes par les différentes filières d'hygiénisation ..	25
1-Effluents d'élevage .....	25
A-Bactéries pathogènes.....	25
a-Résultats d'expériences en laboratoire.....	25
b-Résultats d'unités de méthanisation en grandeur nature .....	26
B-Champignons.....	27
C-Virus .....	28
D-Parasites .....	28
E-Cas des co-substrats.....	28
a-Résultats d'expériences en laboratoire.....	28
b-Résultats d'unités de méthanisation en grandeur nature.....	29
2-Boues de station d'épuration.....	30
A-Bactéries pathogènes.....	30
B-Virus .....	32
C-Parasites.....	32
3-Déchets organiques .....	33
A-Bactérie pathogènes .....	33
B-Champignons.....	34
C-Virus .....	35
D-Parasites .....	35

## ***Glossaire***

ICPE : installation classée pour la protection de l'environnement

NPP : nombre le plus probable

NPPUC : nombre le plus probable d'unités cytopathogènes

MS : matière sèche

UFC : unités formant des colonies

ETM : éléments trace métalliques

CTO : composés trace organiques

PCB : polychlorobiphényle

HAP : hydrocarbures polycycliques aromatisés

AGV : acides gras volatiles

T90 : temps pour réduire de 90% une population

## ***Introduction***

L'épandage des effluents d'élevage sur les terres agricoles est pratiqué depuis très longtemps. Il contribue au recyclage d'éléments nutritifs comme l'azote et le phosphore ainsi qu'à l'apport de matière organique au sol.

Cependant, le digestat issu de la méthanisation de déchets organiques est un produit encore mal connu et trop souvent assimilé à des boues d'épuration. Même si le traitement par digestion anaérobie de déchets organiques permet de produire à la fois un amendement organique et un fertilisant de bonne valeur agronomique, l'innocuité du digestat est controversée.

Sa faible nuisance olfactive ne fait aucun doute. La méthanisation permet de diminuer les odeurs lors de l'épandage, ce qui est un paramètre intéressant vis-à-vis du voisinage, notamment en Savoie où l'urbanisation est en pleine expansion et l'activité touristique très développée. Mais, ses teneurs en agents pathogènes sont remises en cause, notamment en zone de production de fromages sous signes officiels de qualité de Savoie. Son épandage agricole génère donc des polémiques.

D'un côté, les agriculteurs appréhendent une dégradation de l'image de leur métier et de leurs produits. De l'autre, la population craint les éventuelles contaminations sur la santé humaine.

Ainsi, l'objectif de cette étude est de mettre en évidence la connaissance et la maîtrise des aspects sanitaires liés à l'épandage de digestat issus de méthanisation à partir de recherches bibliographiques.

Une première partie présente les aspects réglementaires concernant l'épandage de digestat.

Une seconde partie expose les possibilités de réduction des micro-organismes pathogènes présents dans différents substrats par la méthanisation seule ou couplée à d'autres procédés hygiénisants.

Enfin, une troisième partie porte sur l'étude d'un cas concret : l'unité de méthanisation du GAEC des Chatelets en Haute Savoie.

## ***I- Cadre général et définitions***

La valorisation agronomique du digestat (déchet organique) issus de méthanisation consiste au retour au sol des matières organiques après transformation ou non de ces déchets. Ce retour au sol est encadré par la loi française qui définit deux options fondamentales distinctes :

- transformation du déchet en matière fertilisante (logique produit)
- conservation du statut de déchet (logique déchet)

### ***1- Caractérisation du digestat***

#### ***A-Logique « produit »***

En sortie de digesteur, le digestat peut être normalisé (en application des règles décrites dans la norme NF U 44-051 sur les amendements organiques qui imposent un compostage caractérisé) afin de suivre une **logique « produit »** et être commercialisé sur le marché.

#### ***B-Logique « déchet »***

Il peut aussi suivre une **logique « déchet »** et être valoriser par épandage agricole à la condition qu'il ne présente pas de risque et qu'il ait une réelle valeur agronomique.

Le digestat est considéré comme un mélange de déchet. Lorsqu'il est destiné à l'épandage agricole, il est soumis à la réglementation du déchet qui a la réglementation la plus contraignante. Il n'existe pas de réglementation d'épandage concernant les huiles, les déchets de restauration... Par conséquent, les réglementations restrictives à l'épandage sont celles définies pour le lisier qu'il ait séparation de phase\* ou non. Si des boues urbaines sont traitées, l'épandage du digestat est soumis à la réglementation de celles-ci qu'il y ait séparation de phase ou non.

\*une prochaine norme devrait permettre d'utiliser les règles d'épandage définies pour le compost pour l'épandage de la partie solide

## C-Procédure de retour au sol

La procédure de retour au sol du digestat est illustrée dans le schéma n°1.

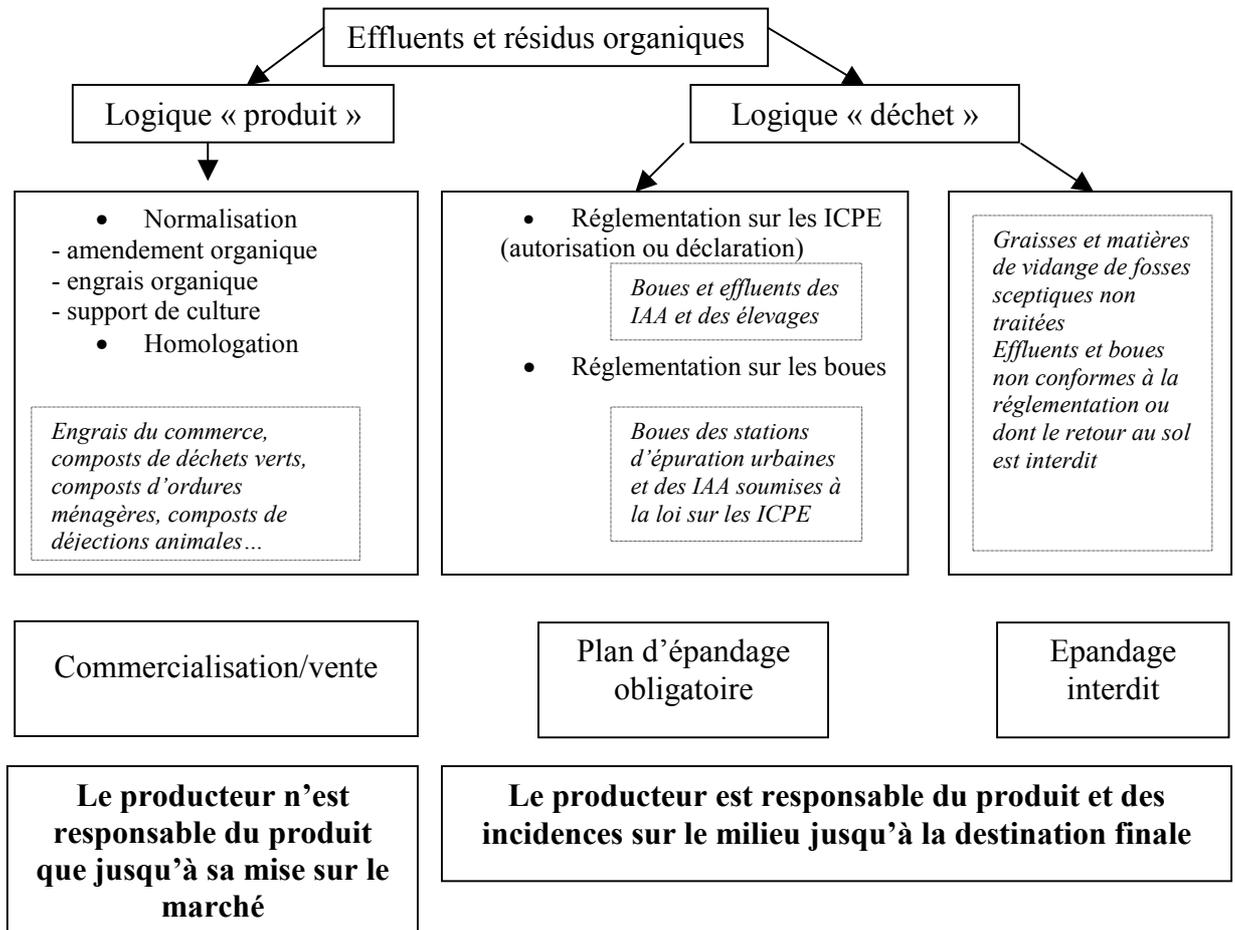


Schéma n°1 : procédure de retour au sol

La logique déchet est uniquement concernée par cette étude.

## 2-Déchet

Selon la loi du 15 juillet 1975, est considéré comme constituant un **déchet** « tout résidu d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation, toute substance, matériau ou produit, ou plus généralement tout bien meuble abandonné ou que son détenteur destine à l'abandon ».

Cette définition est complétée par la **notion de déchet ultime** (loi du 13 juillet 1992) : « un déchet résultant ou non d'un traitement d'un déchet, qui n'est plus susceptible d'être traité dans des conditions techniques et économiques du moment, notamment par extraction de la part valorisable ou par réduction de son caractère polluant ou dangereux » et précisée par la circulaire d'avril 98 « les déchets ultimes sont les déchets dont on a extrait la part récupérable ainsi que les divers éléments polluants comme les piles et accumulateurs ».

## ***A-Déchet organique***

La définition de « **déchets organiques** » n'est pas établie en tant que telle dans la réglementation mais la liste des déchets de ce type auxquels il est fait référence par ce terme peut être déduite de l'analyse de la nomenclature des déchets du 18 avril 2002. Ce sont **l'ensemble des résidus ou sous-produits organiques engendrés par l'agriculture, les industries agroalimentaires ou les collectivités** composés de matière organique non synthétique caractérisée par la présence d'atomes de carbone issus d'organismes vivants, végétaux ou animaux.

La spécificité des déjections animales doit toutefois être signalée car il s'agit d'une catégorie de produits qui ne constitue pas des déchets en soit, mais elles deviennent des déchets quand elles sont mal gérées (cas des excédents non maîtrisés).

Quelques exemples de déchets organiques :

- des collectivités : déchets verts, boues et graisses de station d'épuration, déchets alimentaires, algues vertes...
- des industries agroalimentaires : boues agroalimentaires, déchets de transformation des industries végétales, animales et du bois, résidus organiques des industries de la pêche et de l'aquaculture...
- de l'agriculture : déjections animales excédentaires, résidus de culture, invendus fruits et légumes...

## ***B-Différentes catégories de déchets de sous produits animaux***

Il est impératif de caractériser les déchets entrants dans le digesteur, notamment en ce qui concerne les déchets de sous produits animaux. Le règlement européen n°1774/2002 classe ces déchets en 3 catégories. Les déchets de catégorie 1 représentant le risque le plus élevé pour la santé humaine et animale (cadavre et toute partie du corps d'animaux suspectés d'être infecté par une EST (encéphalopathies spongiformes transmissibles), utilisé à des fins expérimentales, sauvages suspectés d'être infectés par une maladie transmissible, MRS (matériel à risque)) ne peuvent pas être traités dans une unité de méthanisation. Seulement les matières suivantes peuvent être traitées :

- matières de catégorie 2 ayant été soumises à une méthode de transformation n°1 (sterilisation)
- le lisier, les matières stercoaires, le lait et le colostrum
- les matières de catégorie 3 ayant subi une pasteurisation/hygiénisation

### ***a-Déchets de catégorie 2***

Les matières de la catégorie 2 représentent un risque pour la santé animale. Cette catégorie comprend les sous produits animaux, notamment les suivants, ou toute matière contenant de tels sous produits :

- le lisier et les matières stercoaires
- les déchets de dégrillage, dessablage, boue recueillis lors du traitement des eaux résiduaires d'abattoir
- les animaux qui meurent autrement que par abattage

Pour être transformé dans une unité de méthanisation, ces déchets (sauf le lisier et les matières stercoaires) doivent avoir été soumis à une méthode de transformation n°1 :

- si la taille des particules des sous produits animaux est supérieure à 50mm, les produits doivent être fragmentés de manière à réduire la taille des particules à un maximum de 50mm
- après réduction, les sous produits animaux doivent être portés à une température à cœur supérieure à 133°C pendant au moins 20 minutes, sans interruption, à une pression absolue d'au moins 3 bars produite par de la vapeur saturée

### ***b-Déchets de catégorie 3***

La catégorie 3 comprend les sous produits animaux, notamment les suivants, ou toute matière contenant de tels sous produits :

- les parties d'animaux abattus qui sont propres et impropres à la consommation mais qui sont exemptes de tout signe de maladie transmissible
- les peaux, sabots, cornes, soie de porc, plumes, issus d'animaux mis à mort à l'abattoir
- le sang, les peaux, sabots, plumes, laine, corne, poils et fourrures issus d'animaux n'ayant présenté aucun risque de maladie transmissible
- lait cru provenant d'animaux n'ayant présenté aucun risque de maladie transmissible
- déchet de cuisine et de table (sauf provenant de moyens de transport opérant au niveau international : catégorie 1)

Pour être transformé dans une unité de méthanisation, ces déchets (sauf le lait, le colostrum et les produits laitiers) doivent avoir subi une pasteurisation/hygiénisation :

- la taille des particules doit être inférieure à 12mm
- les sous produits doivent être portés à une température minimale de 70°C pendant au moins 60 minutes, sans interruption.

## ***3-Régimes sanitaires des installations de méthanisation***

Toute installation de méthanisation de déchets non dangereux ou matière végétale brute à l'exclusion des installations de stations d'épuration urbaines est soumise à la réglementation des Installations Classées pour la Protection de l'Environnement (ICPE). Actuellement, deux régimes existent : la déclaration et l'autorisation. Courant 2010, un régime intermédiaire, dit enregistrement, sera créé. Les différents régimes des installations sont répertoriés dans le tableau n°1.

<b>Quantité brute traitée par jour</b>	<b>Type de déchets traités</b>	
	<b>Matière végétale brute, effluents d'élevage, matières stercoaires, déchets végétaux d'industrie agro-alimentaire</b>	<b>Autres déchets non dangereux</b>
<b>0 à 30 T</b>	Déclaration, rubrique 2781-1	Autorisation, rubrique 2781-2
<b>30 à 50 T</b>	Autorisation, rubrique 2781-1 (sera remplacé par le régime de l'enregistrement)	
<b>Supérieur à 50 T</b>	Autorisation, rubrique 2781-1	

***Tableau n°1 : Régimes des installations de méthanisation***

### ***A-Rubrique 2781-1***

Lorsqu'une installation de méthanisation ne traite que de la matière végétale brute, des effluents d'élevage, de la matière stercoaire (contenu du tube digestif séparé de l'appareil digestif) et des déchets végétaux issus d'industrie agroalimentaire, elle est soumise à la rubrique 2781-1. Son régime diffère en fonction des quantités brutes traitées par jour :

- si l'unité traite moins de 30 tonnes brutes par jour, elle est soumise à déclaration
- si l'unité traite plus de 30 tonnes brutes par jour, elle est soumise à déclaration (lorsqu'elle traitera entre 30 et 50 tonnes brutes par jour, elle sera soumise à enregistrement, quand ce régime sera créé)

### ***B-Rubrique 2781-2***

Lorsqu'une installation traite des déchets non dangereux autres que de la matière végétale brute, effluents d'élevage, matières stercoaires, déchets végétaux d'industrie agroalimentaire, elle est obligatoirement soumise au régime de l'autorisation, rubrique 2781-2. Néanmoins, les installations qui traitent notamment du lactosérum pourront intégrer le régime de règlement lorsque la quantité brute traitée est inférieure à 50T par jour.

## ***II- Obligations administratives liées à l'épandage du digestat***

### ***1-Enregistrement des sorties du digesteur***

L'exploitant établit un bilan annuel de la production de digestat et tient à jour un registre de sortie mentionnant sa destination qui sera archivé pendant au moins 10 ans. Le cahier d'épandage tel que prévu par l'arrêté du 7 février 2005 peut tenir lieu de registre de sortie du digestat pour les installations visées par cet arrêté. Il doit préciser le volume et la nature du digestat épandu, la date d'épandage, les parcelles réceptrices, la nature des cultures et les quantités d'azote épandues.

### ***2-Etude préalable à l'épandage***

Le digestat épandu a un intérêt pour les sols ou la nutrition des cultures et son application ne porte pas atteinte à la santé de l'homme, des animaux, à la qualité et l'état phytosanitaire des cultures, des sols et des milieux aquatiques.

Tout épandage est subordonné à une étude préalable, montrant l'innocuité et l'intérêt agronomique des effluents ou déchets, l'aptitude des sols à le recevoir et le plan d'épandage.

### ***3-Plan d'épandage***

Si le digestat est destiné à l'épandage sur des terres agricoles sans être mis sur le marché en tant que valeur fertilisante, il fait l'objet d'un plan d'épandage respectant les règles d'épandages auxquelles il est soumis, sans préjudice des réglementations relatives aux nitrates d'origine agricole.

Un plan d'épandage doit être réalisé, il doit permettre de localiser les surfaces épandables compte tenu des règles et distances d'épandage. Dans le cas où la surface potentiellement épandable de l'exploitation est insuffisante, le cahier d'épandage doit mentionner les prêteurs de terres qui ont souscrit un contrat avec l'exploitant.

### ***III-Règles d'épandage du digestat***

Le digestat ayant fait l'objet d'une homologation n'est pas soumis aux règles d'épandage.

Les règles d'épandage du digestat dépendent du régime de l'ICPE et du déchet entrant dont la réglementation est la plus contraignante.

L'épandage du digestat issu d'une ICPE relève des règles techniques de l'arrêté du 10 novembre 2009, à l'exclusion :

- des ICPE soumises à autorisation de la rubrique 2781-1 (sauf pour les analyses de sol, les distances d'épandage par rapport aux habitations, interdictions d'épandage et teneurs maximales en éléments et substances indésirables) et de la rubrique 2781-2 qui relèvent des règles de l'arrêté du 2 février 1998, section IV « épandage »
- des ICPE soumises à autorisation de la rubrique 2781-2, traitant des boues de station d'épurations qui relèvent de l'arrêté du 8 janvier 1998

des installations ne traitant que des effluents d'élevage et des matières végétales brutes issues d'une seule exploitation agricole, les conditions d'épandage sont celles prévues par la réglementation qui s'applique à cette exploitation

#### ***1-Interdiction d'épandage***

L'épandage est interdit sur les terrains de forte pente (sauf si des dispositifs prévenant tout risque de ruissellement et d'écoulement vers les cours d'eau sont mis en œuvre), sur les sols gelés ou enneigés, sur les sols détremés ou inondés et sur les sols non utilisés en vue d'une production agricole.

L'épandage est interdit pendant les périodes de fortes pluviosités.

#### ***2-Distance d'épandage***

Conformément aux règles d'épandage du lisier issu d'une ICPE, l'épandage est interdit :

- à moins de 50m de toute habitation de tiers, des stades, des campings agréés (sauf camping à la ferme), cette distance étant réduite à 15m en cas d'enfouissement direct
- à moins de 50m des points de prélèvement d'eau destinée à l'alimentation des collectivités humaines ou particuliers
- à moins de 200m des lieux publics de baignades et des plages
- à moins de 500m en amont des piscicultures et zones conchylicoles
- à moins de 35m des berges des cours d'eau, cette distance étant réduite à 10m si une bande enherbée ou boisée ne recevant aucun intrant est implantée de façon permanente en bordure des cours d'eau

Néanmoins, des variantes existent concernant les ICPE soumises à autorisation (sauf si elles traitent uniquement de la matière végétale brute et des effluents d'élevages issus d'une seule exploitation), l'épandage est interdit :

- à moins de 50m de toute habitation de tiers, des zones de loisirs et établissements recevant du public, et à moins de 100m si l'unité traite des boues de station d'épuration (sauf si les boues sont hygiénisées)
- à moins de 100m des points de prélèvement d'eau destinée à l'alimentation des collectivités humaines ou particuliers lorsque la pente du terrain est supérieure à 7%, cette distance étant réduite à 35m lorsque la pente est inférieure à 7%
- à moins de 200m des lieux publics de baignades et des plages, sauf si l'unité traite des boues de station d'épuration (pas de règles)
- à moins de 500m en amont des piscicultures et zones conchylicoles
- à moins de 200m des berges des cours d'eau lorsque la pente du terrain est supérieure à 7%, réduite à 100m lorsque le déchet est solide et stabilisé, cette distance étant réduite à 35m si la pente du terrain est inférieure à 7%, réduite à 5m lors d'un enfouissement direct

### ***3-Délais d'épandage***

Les ICPE soumise à autorisation de la rubrique 2781-2 doivent respecter des délais d'épandage en fonction du lieu d'épandage, l'épandage doit être réalisé au moins :

- 6 semaines avant la mise à l'herbe des animaux ou la récolte des fourrages, réduit à 3 semaines si les déchets sont hygiénisés
- 18 mois avant la récolte de cultures maraîchères ou fruitières en contact avec le sol et susceptibles d'être consommées à l'état cru, réduit à 10 mois si les déchets sont hygiénisés
- l'épandage est interdit pendant la récolte sur des terrains affectés à des cultures maraîchères ou fruitières (hors cultures en arbre)

## ***IV-Règles sanitaires d'épandage du digestat***

### ***1-Teneur en agents pathogènes : digestat hygiénisé***

Les matières à épandre doivent être hygiénisées, elles ne peuvent être épandues si les concentrations en agents pathogènes sont supérieurs à :

- *Salmonella* : 8 NPP/10 gramme de Matière Sèche (dénombrement selon la technique du Nombre le Plus Probable)
- *Entérovirus* : 3 NPPUC/10g MS (dénombrement selon la technique du Nombre le Plus Probable d'Unités Cytopathogènes)
- *Oeuf d'Helminthe* : 3 pour 10g MS

Une analyse des coliformes thermotolérants doit être réalisée au moins tous les 15 jours pendant la période d'épandage.

Des seuils fixés par la directive européenne 1774/2002/EC s'ajoutent à ces dispositions :

- *Enterococaceae* ou *Escherichia coli* : inférieurs à 1000 unités formant des colonies par gramme (UFC/g) dans 4 échantillons ou inférieur à 5000 UFC/g dans un échantillon
- absence de *Salmonella* dans 25g.

## **2-Teneur en micro-polluants**

L'épandage est interdit :

- dès lors que l'une des teneurs en éléments ou composés indésirables contenus dans le produit à épandre excède les valeurs limites de l'arrêté du 7 janvier 2002
- dès lors que le flux, cumulé sur une durée de 10 ans, apporté par les produits à épandre en éléments ou composés indésirables excède les valeurs limites de l'arrêté du 7 janvier 2002
- si les teneurs en éléments traces métalliques dans les sols dépassent l'une des valeurs limites de l'arrêté du 7 janvier 2002.

Des dérogations peuvent toutefois être accordées par le préfet sur la base d'une étude géochimique des sols concernés démontrant que les éléments traces métalliques des sols ne sont ni biodisponibles, ni mobiles.

### **A-Teneurs limites en éléments traces métalliques : ETM**

Les valeurs maximales d'éléments trace métalliques autorisées pour l'épandage agricole sont illustrées dans le tableau n°2.

		valeur limite matière à épandre mg/kg MS	valeur limite dans les sols mg/kg MS	flux maximum cumulé , apporté en 10 ans g/m <sup>2</sup>	
				cas général	pâturage et sol dont pH<6
<b>ETM</b>	cadmium	10	2	0,015	0,015
	chrome	1000	150	1,5	1,2
	cuiivre	1000	100	1,5	1,2
	mercure	10	1	0,015	0,012
	nickel	200	50	0,3	0,3
	plomb	800	100	1,5	0,9
	zinc	3000	300	4,5	3
	sélénium*	-	-	-	0,12
	chrome, cuiivre, nickel, zinc	4000	-	6	4

\*pour le pâturage uniquement

**Tableau n°2 : Valeurs limites en éléments trace métalliques autorisées**

### ***B-Teneurs limites en composés traces organiques : CTO***

Les valeurs maximales en composés trace organiques autorisées pour l'épandage agricole sont illustrées dans le tableau n°3.

		valeur limite matière à épandre mg/kg MS		flux maximum cumulé , apporté en 10 ans g/m <sup>2</sup>	
		cas général	épandage sur pâturage	cas général	épandage sur pâturage
<b>PCB</b>	total des 7 PCB <sup>i</sup> *	0,8	0,8	1,2	1,2
<b>HAP</b>	fluoranthène	5	4	7,5	6
	benzo(b)fluoranthène	2,5	2,5	4	4
	benzo(a)pyrène	2	1,5	3	2

***Tableau n°3 : Valeurs limites en composés trace organiques autorisées***

\*PCBi : les 7 PBC indicateurs sont les PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180. Très chlorés et très peu métabolisables, ils sont donc retrouvés dans les aliments à des teneurs très supérieures aux autres catégories de PCB et sont donc considérés comme représentatifs de la contamination globale.

Une prochaine réglementation européenne devrait être plus exigeante concernant les teneurs en composés traces organiques :

- la teneur des 7 polychlorobiphényle indicateurs (PCBi) ne devra pas excéder 0,2 mg/kg MS de matière à épandre
- la teneur de 5 autres hydrocarbures polycycliques aromatisés (HAP) sera limitée à 6 mg/kg MS de matière à épandre : acénaphthène, phénatrène, fluorène, pyrène, indène(123-cd)pyrène

# ***I-Les micro-organismes pathogènes et leurs indicateurs***

## ***1-Les micro-organismes et leurs impacts***

Trois types de micro-organismes pathogènes sont présents dans les déchets organiques : les bactéries, les virus et les parasites.

### ***A-Les bactéries***

#### ***a-Généralités***

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes caractérisés par l'absence de noyau et d'organite. La bactérie contient un seul chromosome.

#### ***b-Classification des bactéries à risque d'infection pour l'homme***

Les bactéries pouvant entraîner des risques d'infection pour l'homme sont classées en quatre groupes en fonction de l'importance du risque d'infection qu'ils présentent :

- groupe 1 : un agent biologique du groupe 1 n'est pas susceptible de provoquer une maladie chez l'homme.
- groupe 2 : un agent biologique du groupe 2 peut provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger ; sa propagation dans la collectivité est improbable ; il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace.
- groupe 3 : un agent biologique du groupe 3 peut provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux ; il peut présenter un risque de propagation dans la collectivité, mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace.
- groupe 4 : un agent biologique du groupe 4 provoque des maladies graves chez l'homme et constitue un danger sérieux ; il peut présenter un risque élevé de propagation dans la collectivité ; il n'existe généralement pas de prophylaxie ni de traitement efficace.

La plupart des bactéries pouvant être présentes dans le digestat font partie du groupe 2, hormis *Escherichia-coli O157* et *Mycobacterium paratuberculosis* qui font partis du groupe 3.

#### ***c-Exemples de bactéries pathogènes***

**Sahlström (2003)** a mis en évidence les principales caractéristiques des bactéries pouvant être retrouvées dans le digestat.

***Salmonella* (enterobacteriaceae)** est l'agent pathogène le plus susceptible de se propager dans l'environnement par le lisier et boue d'épuration. Elle peut se développer de 6°C à 47°C. De plus, selon **Paavola (2008)**, elle peut survivre longtemps pendant le stockage (au moins 3 mois pendant le stockage de lisier de bovin à 10-20°C, au moins 6 mois pendant la digestion aérobie des boues d'épuration à moins de 10°C). Cette bactérie peut entraîner des infections et notamment des entérites d'origine alimentaire.

***Listéria monocytogène* (bacille à gram positif)** est la seule espèce du genre *listéria* à être pathogène pour l'homme. Cette bactérie est très résistante dans les milieux extérieurs et peut se retrouver dans les sols, ensilage, fèces, excréments. Elle survit et se développe de 1 à

45°, mais elle ne survit pas plus de 30 minutes à plus de 60°C, la pasteurisation l'élimine des aliments. Le problème avec la *Listéria monocytogène* est qu'elle continue de se développer aux températures de réfrigération proche de 0°C, contrairement à la plupart des autres bactéries. C'est un pathogène d'origine alimentaire qui peut provoquer des listérioses.

*Escherichia-coli O157* (*enterobacteriaceae*) est un sérotype particulier d'*escherichia coli* responsable de plusieurs pathologies d'origine alimentaire dont la colite hémorragique, le syndrome hémolytique et urémique. D'autres *Escherichia coli* peuvent entraîner ces pathologies, mais c'est le type O157:H7 qui est le plus souvent remis en cause, la plupart des *escherichia coli* sont souvent bénignes. Cette bactérie se retrouve généralement à l'intérieur des intestins des bovins et peut donc être présente dans les effluents d'élevage bovin. Elle se développe de 10 à 48°C. Elle survit et produit des vérotoxines jusqu'à 10 semaines.

*Mycobacterium paratuberculosis* est une bactérie aérobique stricte. Elle est présente partout, cette bactérie est très résistante dans des milieux variés. Elle est responsable d'entérite chronique chez les ruminants (bactéries excrétées des fèces des animaux infectés, propagation par l'eau et alimentation contaminée).

*Campylobacter* est une bactérie micro-aérophile à gram positif. Cette bactérie est très sensible à la digestion anaérobie, elle disparaît totalement après 90 jours de digestion. Les *Campylobacters* sont des pathogènes d'origine alimentaire à l'origine de manifestations cliniques variées, ils sont principalement responsables des gastro-entérites chez les hommes.

Les *Clostridium* sont des *bacilles de gram positif* formant des spores qui sont responsables de leur thermotolérance, ils peuvent survivre plusieurs années dans l'environnement. Ils sont principalement présents dans l'ensilage qui a été mal préparé, source de contamination de la vache et du lait par l'alimentation. Selon **Lafrenière (2006)**, la contamination du lait cru par les spores butyriques peut entraîner des pertes économiques importantes en industrie laitière (production de fromage), même si le problème n'est pas présent sur une base régulière. Ces pertes sont dues principalement à la croissance du *Clostridium tyrobutyricum* lors de la maturation de certains fromages. Le phénomène est visible pour les fromages à pâte pressée cuite et certains fromages à pâte non cuite. Durant le vieillissement du fromage, les spores butyriques germent et se développent. Le *Clostridium* produit alors des gaz (H<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>) ce qui provoque le gonflement des fromages. Il peut aussi y avoir production d'acide butyrique, ce qui induit un goût désagréable. La pasteurisation ne permet pas, actuellement, l'élimination de ces spores. Cette bactérie peut entraîner des maladies pour l'homme telles que le tétanos, botulisme, jambe noire.

*Yersinia enterocolitica* (*enterobacteriaceae*) est un *bacille de gram négatif*. Les animaux réservoirs de cette bactérie sont les animaux sauvages et domestiques et principalement les porcs d'engraissement, ce qui peut entraîner un risque lorsque les déchets d'abattoir sont utilisés comme substrat en méthanisation. Cette bactérie peut pousser dans une large gamme de pH (pH entre 4 et 10) et peut se multiplier à des températures variant de 0 à 42°C. Elle est à l'origine de certaines infections chez l'homme, notamment des entérites, (principalement chez les enfants) et de la yersiniose, il s'agit d'une zoonose (maladie des animaux transmissible à l'homme et réciproquement).

### ***d-Survie des bactéries dans le sol***

Selon **Paavola (2008)**, la survie des bactéries dans le sol dépend de plusieurs facteurs : température, pH, composition du sol, teneur en humidité, présence d'autres microorganismes. La majorité des *Escherichia coli*, *Coliformes fécaux* et *Enterobacteriaceae* sont indétectables 80 jours après l'épandage de digestat issus de boues d'épuration dans un sol non fertilisé (mais les enterobactéries sont encore détectables au bout de 80 jours dans un sol fertilisé).

### ***B-Les virus***

#### ***a-Généralité***

Les virus sont des agents infectieux à la limite du monde vivant et du monde moléculaire, capable de pénétrer, de diffuser et de se multiplier dans un organisme hôte. Ils sont composés d'un génome viral : une molécule d'acide nucléique (ARN ou ADN) entourée d'une coque de protéine (la capside). Ils ne possèdent en général pas d'enzyme pouvant produire de l'énergie.

#### ***b-Exemple de virus : les Entérovirus***

Les *Entérovirus* sont des virus non-enveloppés à ARN simple brin. Ils font partie de la famille des *Picornaviridae*. Les entérovirus sont rapidement inactivés par les UV. Ils entrent dans l'organisme par le tractus alimentaire. Les infections dues aux entérovirus passent souvent inaperçues car elles engendrent des manifestations sub-cliniques. Mais, les entérovirus peuvent être à l'origine d'infections telles que les méningites, des maladies des voies respiratoires, des conjonctivites, des maladies cardiaques et gastro-intestinales.

### ***C-Les parasites***

Un parasite est un être vivant qui se nourrit au dépens d'un autre organisme hôte. Les parasites sont majoritairement des *Protozoaires* et des *Helminthes*.

#### ***a-Les Helminthes***

Les *Helminthes* ou vers sont des endoparasites : parasites qui habitent l'intérieur de leur hôte et se nourrissant de son fluide intérieur et finissant parfois par le tuer. Ils se répartissent dans trois classes principales : les cestodes et les trématodes (vers plats) et les nématodes (vers rond). Le plus connu des *Helminthes* est le vers solitaire.

#### ***b-Les Protozoaires***

Les protozoaires sont des êtres vivants unicellulaires eucaryotes (la cellule possède un noyau entouré d'une membrane nucléaire) .

## ***2-Les micro-organismes indicateurs***

Compte tenu de la grande diversité d'agents pathogènes, il est difficile de détecter et de quantifier tous les agents pathogènes (**Bagge, 2005**). Il est donc nécessaire d'utiliser des organismes indicateurs afin d'évaluer l'efficacité d'hygiénisation du traitement.

Des organismes indicateurs sont couramment utilisés pour détecter la présence éventuelle d'agents pathogènes fécaux dans l'approvisionnement en eau potable traitée, eaux douces et salées de loisirs, piscines, eaux marines utilisées pour la production et récolte de coquillages... Une grande variété d'espèces bactériennes et parasitaires ont été évaluées par rapport à leur fiabilité en tant qu'indicateurs pour la santé publique.

**Böhm (1999)** a énuméré les exigences que doivent remplir les organismes indicateurs dans le cas d'un traitement par digestion anaérobie :

- présence, avec une forte probabilité, dans les intrants ou fumier / déchets organiques
- l'organisme indicateur ne devrait pas être impliqué dans le processus de traitement biologique (il ne devrait pas faire parti de la population de flore microbienne impliquée dans le processus de digestion anaérobie)
- l'organisme indicateur ne devrait pas être présent dans le sol ou milieux aquatiques.

De plus, **Prescott (2003)** propose d'autres critères que doivent remplir les indicateurs de pathogènes :

- la bactérie indicatrice doit être présente chaque fois que des agents pathogènes entériques sont présents
- la bactérie indicatrice doit survivre plus longtemps que le germe entérique le plus résistant
- la concentration de la bactérie indicatrice doit refléter de façon directe le niveau de pollution fécale

**Concernant l'hygiénisation du digestat, la réglementation fixe les indicateurs suivants pour déterminer l'efficacité du traitement de la digestion anaérobie (voir les valeur partie 1 page 7) :**

- **bactéries : *Salmonella* et *Escherichia coli* ou *Entérocooccus***
- **virus : *Entérovirus***
- **parasites : *Œuf d'Helminthe***

### ***A-Les germes indicateurs de bactéries***

L'indicateur le plus couramment utilisé pour la santé public est *Escherichia Coli*. Selon **Bagge (2005)**, *Escherichia coli* et *Enterococcus* seraient des indicateurs fiables car ils sont plus résistants aux traitements des déchets. D'ailleurs, ***Escherichia coli* et *Enterococcus* ont été choisi comme indicateurs par la réglementation européenne.** *Escherichia coli* est indicateur efficace pour étudier la réduction des bactéries entériques et notamment les *Salmonella* (**Smith, 2005**). Mais l'utilisation des *Enterocoques* comme bactéries indicatrices des bactéries végétatives semble plus appropriée que *Escherichia coli* (**Olsen, 1984**). Cette méthode est applicable aux installations de traitement des lisiers (**Larsen, 1994**).

Des études dans certains pays européens ont abouti au choix d'autres micro-organismes indicateurs.

A la suite d'une recherche vétérinaire au Danemark, le choix d'indicateur dans ce pays s'est porté sur les *Streptocoque fécaux* pour garantir la qualité des digestats en terme de pathogènes (*Salmonella, Listeria, Campylobacter, Yersina*).

Les *Streptocoques fécaux* sont proposés comme indicateurs pour confirmer l'efficacité de réduction des pathogènes (**Sahlström, 2003**).

Ce sont des indicateurs microbiens de 50 à 55°C (**Bendixen, 1992**), ils sont les meilleurs indicateurs de bactéries mais ne peuvent pas être utilisés comme indicateurs en dessus de 55°C car ils diminuent rapidement à partir de cette température et ne peuvent être quantifiés (**Sahlström, 2003**).

Selon **Sahlström (2003)**, les *Streptocoques fécaux* sont les seuls indicateurs qui aient une corrélation significative avec les *Lystéria monocytogènes*.

Une étude allemande réalisée par **Böhm** a proposé d'utiliser Salmonella comme organisme indicateur. Selon **Böhm**, l'absence de Salmonella est le meilleur indicateur d'efficacité du traitement en digestion anaérobie. **La réglementation européenne a donc choisi l'absence de Salmonella dans 25g comme indicateur d'hygiénisation de digestat.**

Les *Coliformes* seraient aussi des indicateurs fiables, notamment pour évaluer la réduction des *Salmonella* (**Bagge, 2005**). Mais, ils sont moins appropriés que les *Streptocoques fécaux* en tant qu'indicateur de contamination fécale (**El Abagay, 1984**).

Néanmoins, des perspectives d'utilisation d'autres indicateurs sont en réflexion. Il serait plus judicieux d'utiliser des spores comme indicateur compte tenu du fait qu'ils sont persistants (à basse et forte températures) et survivent plus longtemps en milieu pauvre (**Bagge, 2005**).

### ***B-Les germes indicateurs de virus***

Des études en Suisse ont été réalisées pour déterminer les germes indicateurs de virus.

Les *Streptocoques fécaux* seraient de bons indicateurs des virus fécaux (**Sahlström, 2003**), mais ce sont des indicateurs qualitatifs des virus et non quantitatifs surtout en mésophilie (**Berg, 1980**).

Une réduction de  $10^4$  *Entérocoques* indique une élimination de plusieurs virus, notamment le virus de la BVD, de la rhino-trachéite infectieuse bovine (**Bendixen, 1996**). De plus, ils seraient des indicateurs fiables pour mesurer l'effet sur les entérovirus (**Lund, 1996**).

Des virus peuvent aussi être utilisés comme indicateurs de virus. Le *Réovirus* et *Picomavirus* représentent le mieux les virus animaux pathogéniques (**Lund, 1996**). Mais au-delà de 60°C, il faut utiliser des indicateurs plus thermorésistant (**Bendixen, 1995**), comme par exemple le *Parvovirus porcin* dans une plage de 50 à 80°C (**Lund, 1996**). Le temps pour réduire de 90% le nombre de *Parvovirus bovin* est de 20 heures à 55°C.

## ***II-Micro-organismes présents dans les éventuels intrants du digesteur***

### ***1-Effluent d'élevage***

#### ***A-Bovin***

**Heinonen-Tanski (2006)** a estimé que les effluent d'élevage bruts de bovins peuvent contenir jusqu'à  $10^9$  à  $10^{10}$  unités formant des colonies par gramme (UFC/g) de pathogènes totaux, dont  $10^8$  UFC/g étant des bactéries.

Par contre, selon **Watcharasukarn (2009)**, le lisier de bovin peut contenir  $10^4$  UFC/millilitre d'*Escherichia Coli*,  $10^5$  UFC/millilitre d'*Enterocoques fécaux* et 10 UFC/millilitre de *Clostridium perfringens*.

Néanmoins, ces micro-organismes survivent difficilement dans les effluents sortis du transit intestinal. En effet, les parasites ne peuvent pas se multiplier et la plupart des micro-organismes ont des difficultés à croître à la suite du changement de conditions de l'environnement (température, pH, potentiel redox) et de la compétition microbienne pour accéder à la nourriture.

### ***B-Porcin***

Selon **Vanotti (2004)**, le lisier de porc peut contenir les concentrations en agents pathogènes suivantes :  $10^{3,89}$  UFC/g de *Salmonella*,  $10^{6,79}$  UFC/g de *Coliformes totaux*,  $10^{6,23}$  UFC/g de *Coliformes fécaux*,  $10^{5,73}$  UFC/g de *Enterocoque*.

### ***C-Espèces pathogènes les plus présentes dans les effluents d'élevage***

Les genres des espèces pathogènes qui sont généralement présents dans les effluents d'élevage sont illustrés dans le tableau n°1.

<b>Pathogène</b>	<b>Hôte principal</b>
<b>Bactéries</b>	
<i>Salmonella dublin</i>	Bovin
<i>Salmonella typhimurium</i>	Bovin, volaille, homme
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	Bovin
<i>E coli</i>	Bovin, porcin
<i>Treponema hydrosenteriae</i>	Porcin
<i>Clostridium perfringens</i>	Porcin
<i>Erysipelotrix rhusiopathiae</i>	Porcin
<i>Listeria monocytogène</i>	Ovin, bovin
<b>Virus</b>	
<i>Rotavirus</i>	Bovin
<i>Coronavirus</i>	Bovin
<i>Parvovirus</i>	Porcin
<b>Parasites</b>	
<i>Œufs d'ascaris</i>	Porcin
<i>Trichostrangylidae</i>	Bovin
<i>Dictyocaulus viviparus</i>	Bovin
<i>Coccidae</i>	Bovin, porcin, volaille
<i>Fasciola hepatica</i>	Bovin, porcin

**Tableau n°1 : Micro-organismes pathogènes régulièrement présent dans les effluent d'élevage (Bendixen, 1994)**

### ***2-Boues de stations d'épuration***

Les principaux micro-organismes présents dans les boues d'épurations sont illustrés dans le tableau n°2.

<b>Bactéries</b>	<i>Mycobactérie, Coliformes fécaux, Streptocoques fécaux, Escherichia Coli, Salmonella, Clostridium sulfito-réducteur</i>
<b>Virus</b>	-
<b>Parasites</b>	<i>Giardia, Ascaris, Taenia, Fasciola hepatica</i>

**Tableau n°2 : Micro-organismes présents dans les boues d'épuration  
(Berron, 1984)**

### **3-Déchets organiques ménagers**

Les principaux micro-organismes présents dans les déchets organiques ménagers sont illustrés dans le tableau n°3.

<b>Bactéries</b>	<i>Citrobacter, Clostridium, Enterobacter, E Coli, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Salmonella, Serratia, Staphylococcus, Streptococcus, Yersinia</i>
<b>Virus</b>	<i>Adenovirus, Coxsackievirus, Enterovirus, Virus de l'Hépatite A, Herpesvirus suis, Paramyxovirus, Parvovirus, Pestivirus, Reovirus</i>
<b>Champignons</b>	<i>Aspergillus</i>

**Tableau n°3 : Micro-organismes présents dans les déchets organiques ménagers  
(Böhm, 1999)**

## **III-La digestion anaérobie : facteurs intervenants sur la réduction des agents pathogènes**

**Sahlström (2003)** a mis en évidence les principaux facteurs influençant la réduction des micro-organismes pathogènes durant la digestion anaérobie.

Le principal facteur est le couple température et temps de séjour et notamment la température. En effet, plus la température de digestion augmente, plus le temps de séjour diminue pour obtenir le même taux de réduction.

La réduction des pathogènes est plus rapide en thermophilie qu'en mésophilie. Le temps pour réduire de 90% la population en agents pathogènes (T90) est de plusieurs heures en thermophilie, alors qu'il est de plusieurs jours voir plusieurs mois en mésophilie.

La zone thermophile assure des taux d'élimination supérieurs à ceux de la zone mésophile. Par exemple la digestion thermophile permet une réduction de plus de  $10^4$  streptocoques fécaux alors que la digestion mésophile permet de réduire les streptocoques fécaux de  $10^1$  à  $10^2$  (**Bendinxen, 1996**).

D'autres facteurs entrent en jeu pour réduire les micro organismes pathogènes :

- le système de digestion : continu ou discontinu
- AGV et pH
- concurrence entre les bactéries
- système de distribution : zone morte, chemins préférentiels

## ***1- Facteurs intervenants sur la réduction des pathogènes pendant la digestion anaérobie mésophile***

D'après **Smith (2003)**, en mésophilie, la température n'est pas directement responsable de la réduction des pathogènes, d'autres facteurs entrent en jeu. Les principaux facteurs responsables sont : la limitation du substrat, la compétition entre les bactéries, l'optimisation du procédé pour stabiliser la matière organique, la minimisation des chemins préférentiels et le temps de séjour.

Selon lui, le digesteur optimal est celui qui a peu de zone morte, qui limite les débits de dérivation, avec beaucoup d'agitation. En effet, l'augmentation du volume de la zone morte et des débits de dérivation réduisent la capacité à détruire les pathogènes dans le digesteur. L'augmentation de l'agitation favorise la destruction des pathogènes.

## ***2- Facteurs intervenants sur la réduction des pathogènes pendant la digestion anaérobie thermophile***

En thermophilie, l'inactivation des bactéries entériques est contrôlée par : résistance des souches microbiennes à la chaleur intrinsèque, stress de l'environnement (pH, concentration en électrolytes), le couple température et temps de séjour (**Smith, 2003**).

## ***IV-Méthodes complémentaires utilisées pour réduire les micro-organismes pathogènes***

La combinaison de la méthanisation avec d'autres techniques de traitements permet d'assurer le choix d'une filière hygiénisante. Le schéma n°1 présente les différentes filières d'hygiénisation pouvant être mise en place (Couturier, 2001).

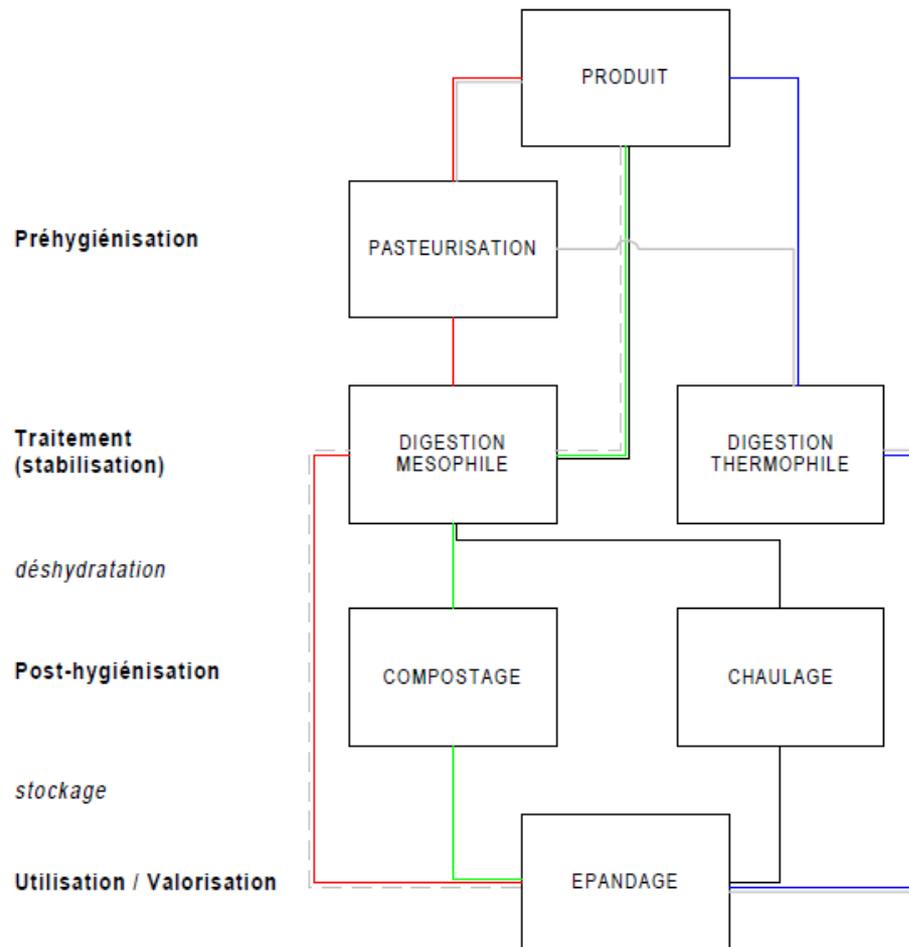


Schéma n°1 : Différentes filières d'hygiénisation

Après une digestion thermophile, le digestat est totalement hygiénisé, aucun traitement supplémentaire n'est nécessaire avant l'épandage agricole. Par contre, la digestion mésophile peut nécessiter la mise en place de traitements complémentaires pour hygiéniser le digestat : des pré- traitements ou des post-traitements.

## ***1-Pré-traitements utilisés pour réduire les agents pathogènes***

Les pré-traitements utilisés en méthanisation ont deux fonctions principales. Ils permettent de faciliter la dégradation de la matière organique afin de maximiser la production de biogaz et d'hygiéniser les substrats.

### ***A-Pasteurisation***

La pasteurisation est une méthode physique de traitement. Selon la directive européenne, elle doit se réaliser à au moins 70°C pendant 60 minutes.

Elle peut se faire avant ou après la digestion anaérobie. Lorsqu'elle se fait après la digestion il peut aussi avoir une re-contamination et re-croissance des pathogènes, notamment si le digestat est transporté. (Sahlström, 2003).

Cette méthode est efficace en système continu et discontinu. Mais, elle est préférable en discontinu car la régulation de la température et du temps de séjour est mieux maîtrisée et il est possible de vérifier les effets sur la réduction des pathogènes (**Bagge, 2005**)

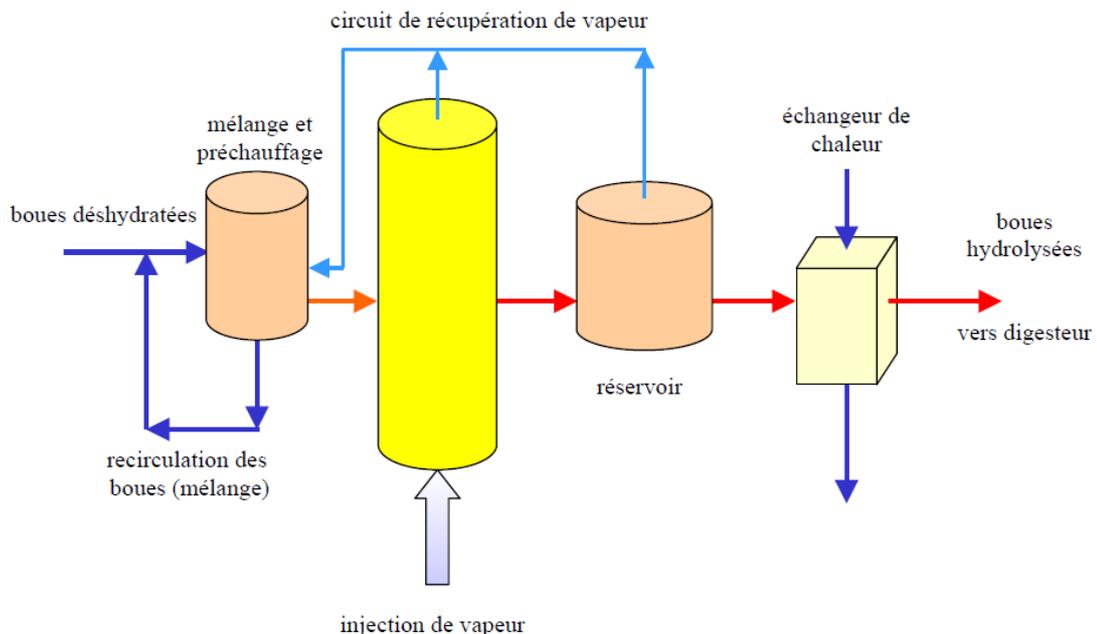
Selon **Heinonen-Tanski (2006)**, la pasteurisation est efficace pour la destruction des micro-organismes entériques et de beaucoup de virus, elle permet de rendre le digestat hygiénisé réglementaire.

Néanmoins, elle n'a aucun effet sur la réduction des spores.

### ***B-Traitement thermique à haute température : exemple du procédé Cambi***

Le traitement thermique à haute température est un traitement drastique. D'après **Odegaard (2002)**, un procédé thermique à 180°C pendant 30 minutes, suivi d'une digestion anaérobie mésophile, permet de détruire les agents pathogènes (absence de *Salmonelles* pour 50 g de boues, absence d'*Oeufs d'Helminthes* viables, moins de 2 500 *Coliformes fécaux* par gramme de matière sèche).

Le schéma n°2 présente le procédé Cambi.



**Schéma n°2 : Procédé de lyse thermique de la firme Cambi**

## ***2-Post traitements utilisés pour réduire les agents pathogènes***

Les post traitements du digestat ont plusieurs objectifs : déshydrater le digestat pour réduire le volume (séchage thermique) et compléter sa fermentation et son hygiénisation (compostage, chaulage)

### ***A-Traitement aérobie (compostage)***

Le compostage aérobie permet de réduire les agents pathogènes par le biais de la respiration aérobie qui produit de la chaleur. De plus, la dégradation de protéines par

l'ammonification permet une augmentation du pH et du taux d'ammoniac empêchant la survie de beaucoup de microorganismes (Heinonen-Tanski, 2006).

Le compostage aérobie permet de finir l'hygiénisation du digestat issus de digestion anaérobie mésophile. La durée de post compostage varie de 14 jours à 2,4 mois en fonction des auteurs.

Par contre, en comparaison à un traitement aérobie simple, la conduite d'une digestion anaérobie mésophile avant le compostage permet de diminuer le temps nécessaire pour hygiéniser les boues. En effet, après une digestion anaérobie, le temps de compostage nécessaire pour hygiéniser le digestat va de deux semaines à 2,4 mois suivant les auteurs, alors qu'il faut au moins trois mois dans des conditions optimales en traitement aérobie simple (à l'abri de la pluie, aération du tas et condition de stockage qui permettent une température de 60°C dans le tas).

### ***B-Traitement à la chaux (chaulage)***

Le chaulage est une méthode de traitement chimique qui peut agir sur deux facteurs pour réduire les agents pathogènes en fonction de la chaux utilisée : oxyde de calcium (chaux vive) ou hydroxyde de calcium (chaux éteinte).

En contact avec de l'eau, la chaux vive provoque une réaction exothermique qui libère de la chaleur et entraîne donc une montée en température, ce qui permet de détruire les pathogènes.

La chaux éteinte très basique qui arrive soudainement dans le milieu provoque une augmentation rapide du pH (jusqu'à 10) et une libération d'ammoniac, ce qui permet une inhibition de beaucoup de bactéries entériques (Heinonen-Tanski, 2006).

Cette méthode est souvent utilisée pour une destruction rapide des *Salmonella* (Heinonen-Tanski, 2006) et est bénéfique en cas d'épandage sur les sols acides.

Selon Marcinkowski (1985), les boues anaérobies nécessitent 30% de chaux en moins que les boues aérobies pour obtenir le même effet réducteur sur les bactéries.

## ***V-Réduction des micro-organismes pathogènes par les différentes filières d'hygiénisation***

### ***1-Effluents d'élevage***

#### ***A-Bactéries pathogènes***

##### ***a-Résultats d'expériences en laboratoire***

Les effets de la digestion anaérobie et de la pasteurisation sur la réduction des bactéries pathogènes présentes dans le lisier de bovin ont été étudiés en laboratoire Watcharasukarn (2009).

Les résultats d'expériences sont synthétisés dans le tableau n°4.

##### ***- Température de digestion***

Les résultats démontrent que la digestion anaérobie thermophile est plus efficace que la digestion mésophile sur la réduction des bactéries pathogènes présentes dans les déjections

animales : en thermophilie, l'inactivation bactérienne est supérieure à la mésophilie et la réduction est plus rapide.

Néanmoins, dans cette expérience, la digestion mésophile permet aussi de réduire les *Escherichia Coli* en dessous du seuil de détection réglementaire. En effet, avec une concentration initiale de  $10^4$  UFC/millilitre d'*Escherichia Coli* dans le lisier de bovin, *Escherichia Coli* est réduit en dessous du seuil de détection réglementaire au bout de 40 minutes à 55°C et six jours à 37°C.

#### - *Pasteurisation*

La pasteurisation à 70°C permet de réduire rapidement les *Escherichia Coli* en dessous du seuil réglementaire : au bout de deux minutes.

Par contre la pasteurisation n'a pas d'effet sur la réduction des Entérocoques fécaux et *Clostridium perfringens*. Même au bout de 1 jour (alors que la réglementation prévoit un temps de séjour de 60 minutes), la réduction de ces deux bactéries est à peine de 10.

	<b>37°C</b> <b>temps de séjour : 15</b> <b>j</b>	<b>55°C</b> <b>temps de séjour : 2 j</b>	<b>70°C</b> <b>temps de séjour : 1</b> <b>j</b>
<b>E Coli</b>	Réduction de $10^{2,6}$ en 6 jours	Réduction de $10^{4,37}$ en 40 minutes	Réduction de $10^{4,94}$ en 10s
<b>Enterocoques fécaux</b>	Réduction de $10^{3,13}$ en 15 jours	Réduction de $10^{1,7}$ en 2 jours	Réduction de $10^{1,77}$ en 1 jour
<b>Clostridium perfringens</b>	Réduction de $10^{1,35}$ en 15 jours	Moins de $10^1$ en 2 jours	Moins de $10^1$ en 1 jours

**Tableau n°4 : Réduction des *Escherichia Coli*, Entérocoques fécaux et *Clostridium perfringens* à différentes températures**

#### ***b-Résultats d'unités de méthanisation en grandeur nature***

Les résultats issus d'unités de méthanisation en grandeur nature confirme les constats en laboratoires. Les résultats constatés par **Bendixen (1999)** sont synthétisé dans le tableau n°5.

#### - *Température de digestion*

La digestion anaérobie thermophile est plus efficace que la digestion mésophile sur la réduction des micro-organismes pathogènes présents dans les déjections animales (**Marache, 2001**).

Bien qu'elle soit plus efficace qu'un simple stockage, la réduction des bactéries en mésophilie est souvent faible et moins rapide qu'en thermophilie.

Par exemple, en mésophilie à 35°C, le T90 des *Escherichia Coli* est de 2,4 jours et celui des *Salmonella* d'environ deux jours (**Bendixen, 1999**). Selon **Sahlström (2003)**, il faut 10 jours à 37°C pour réduire de 90% la population des *Salmonella*.

En thermophilie, le temps pour réduire de 90% la population est atteint en quelques heures et les bactéries végétatives sont éliminées au bout de 12 à 24 heures (**Marache, 2001**).

Par exemple, le T90 des *Escherichia Coli* est de 10 minutes à 55°C et de une à trois heures à 50°C (Aitken, 2007). Les *Streptococques fécaux* et *Escherichia coli* sont totalement détruits. De plus, en système continu, les *Salmonella* et *Mycobactérium paratuberculosis* sont inactivées dans les 24 heures en thermophilie à 55°C (Sahlström, 2003). Le T90 des *Salmonella* est de 0,7 heure en thermophilie (Bendixen, 1999).

Néanmoins, ni la digestion anaérobie mésophile ni la digestion anaérobie thermophile n'ont d'impact sur la réduction des bactéries sporulées *Bacillus* et *Clostridium* (Bendixen, 1999). Il y'a même une augmentation en mésophilie (Marache, 2001).

	Stockage simple		Digestion anaérobie	
	6 à 15°C	18 à 21°C	35°C	53°C
<i>Salmonella typhimurium</i>	5,9 semaines	2 semaines	2,4 jours	0,7 heure
<i>Salmonella dublin</i>	-	-	2,1 jours	0,6 heure
<i>E coli</i>	8,8 semaines	2 semaines	1,8 jours	0,4 heure
<i>Clostridium perfringens</i>	Pas de réduction			
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	Pas de réduction	
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,1 semaines	0,9 semaine	0,9 jour	0,5 heure
<i>Mycobactérium paratuberculosis</i>	-	-	6 jours	0,7 heure
<i>Coliforme</i>	9,3 semaines	2,1 semaines	3,1 jour	-
<i>Streptocoque fécaux</i>	-	-	2 jours	1 heure

**Tableau n°5 : T90 des agents pathogènes durant la digestion anaérobie et le simple de stockage dans des installations en grandeur nature**

#### - Pasteurisation

La pasteurisation à 70°C pendant 60 minutes permet de réduire les pathogènes, mais le temps nécessaire pour réduire la population de 90% est nettement inférieur au temps total de pasteurisation puisqu'il est de quelques secondes, même pour les *Mycobactéries* qui sont les bactéries non sporulées les plus thermorésistantes.

Par exemple, le T90 des *Salmonella* entériques (dans jaune d'œuf) est de 1,2 seconde à 71°C, le T90 des *Listéria monocytogène* (crème ou beurre), *Salmonella* et *Echerischia coli* est de 11,3 secondes à 68°C, le T90 des *Mycobacterium paratuberculosis* est 11,7 secondes à 71°C (Heinonen-Tanski, 2006).

Cependant, même la pasteurisation n'a pas d'effet sur la réduction des bactéries sporulées.

#### - Stockage aérobie

Aucune donnée concernant le post traitement par stockage aérobie du digestat à partir d'effluent d'élevage n'a été trouvée.

### **B-Champignons**

Aucune donnée concernant la réduction des champignons filamenteux pouvant être présents dans les effluent d'élevage n'a été trouvée.

## ***C-Virus***

Contrairement à ce qu'il est en général admis, on ne peut pas dire que la digestion anaérobie mésophile soit plus efficace sur l'inactivation des virus que des bactéries (**Laurent Emmanuel Marache, 2001**).

En mésophilie, la réduction varie en fonction du type de virus. Par exemple, l'*Adenovirus* est plus facilement inactivé que les *Entérovirus* dans le lisier bovin et porcin, et le *Parvovirus* ne subit aucune réduction du fait de sa thermo-résistance (**Laurent Emmanuel Marache, 2001**).

La digestion en thermophilie est plus efficace puisqu'elle permet une inactivation par la chaleur.

## ***D-Parasites***

La réduction des parasites en digestion anaérobie est dépendante de l'espèce des parasites et de la température, la thermophilie est aussi plus efficace que la mésophilie.

En réacteur semi continu, il y'a une dévitalisation des *Nématodes* de bovins et *Coccidies* à des températures allant de 50 à 60°C, alors qu'il n'y a aucun effet à des températures allant de 30 à 31°C (**Marache, 2001**).

Certains parasites sont très résistants comme *Eimeria* et *Schistosoma*.

## ***E-Cas des co-substrats***

### ***a-Résultats d'expériences en laboratoire***

La co-digestion anaérobie en mésophilie et thermophilie d'effluents d'élevage et de déchets organiques, suivie d'un stockage aérobique et/ou précédée d'un traitement de pasteurisation ont été étudiées en laboratoire (**Paavola, 2008**).

Les caractéristiques des expériences sont répertoriées dans le tableau n°6.

Digesteur	1	2	3	4
Pré-traitement	-	Pasteurisation : 70°C, 60 min	-	-
Température de digestion en °C	35	35	55	55
TRH en jours	20	20	20	15

***Tableau n°6 : Caractéristiques des unités de méthanisation***

### ***- Température de digestion***

Les résultats se montrent négatifs vis-à-vis de l'efficacité de la digestion mésophile face à la réduction des bactéries pathogènes. La digestion mésophile ne permet pas une réduction suffisante des bactéries pour rendre le digestat conforme à la réglementation sanitaire européenne. Même si la digestion mésophile permet une réduction de 0 à 10<sup>2</sup> indicateurs de bactéries (*Coliformes fécaux*, *Entérocoques*, *Entérobactéria*), ils sont encore présents à hauteur de 0 à 10<sup>5</sup> UFC/g dans le digestat et les *Salmonella* sont encore présentes alors que les *Entérocoques* devraient être inférieurs à 10<sup>3</sup> UFC/g et les *Salmonella* devraient être absentes.

La digestion anaérobie thermophile est plus efficace face à la réduction des bactéries pathogènes. En effet, le digestat répond à la réglementation sanitaire européenne après la digestion thermophile. Elle permet une réduction de 0 à 10<sup>5</sup> indicateurs de bactéries, ils sont présents dans le digestat à hauteur de 0 à 10<sup>3</sup> UFC/g et il n'y a aucune *Salmonella* décelée.

Néanmoins, il n'y a pas de différence sur la réduction des *Clostridium anaérobie sulfito-réducteurs* entre la digestion mésophile et thermophile (réduction de 0 à 10<sup>3</sup>).

#### - **Pasteurisation**

La digestion mésophile précédée d'un traitement de pasteurisation à 70°C pendant 60 minutes permet au digestat d'être conforme vis-à-vis de la réglementation européenne.

#### - **Stockage aérobie**

Le stockage aérobie permet d'améliorer légèrement la qualité sanitaire du digestat. Concernant le digestat issu de digestion mésophile, un post traitement en stockage aérobie d'au moins 2,4 mois permet au digestat d'être conforme vis-à-vis de la réglementation. En effet, après 2,4 mois de stockage aérobie, le nombre de *Coliformes fécaux*, *Entérocoques* et *Enterobactéria* est inférieur au seuil de détection (les Coliformes fécaux sont inférieurs à 50 UFC/g et les *Enterobacteria* sont inférieurs à 100 UFC/g) et les *Salmonella* sont absentes.

Mais, le stockage du digestat n'a aucune influence sur les bactéries sporulées (*Clostridium*) qu'il soit réalisé après une digestion mésophile ou thermophile, leur résistance est liée à leur capacité à former des spores.

### ***b-Résultats d'unités de méthanisation en grandeur nature***

Les résultats des études réalisées dans quatre installations en grandeur nature traitant des déjections animales de plusieurs élevages de porcs et d'exploitations laitières, des déchets d'industries alimentaires et déchets de cantines et restaurants sont plus mitigées (**Bagge, 2005**). Ils mettent en évidence l'importance de la gestion rigoureuse du digestat.

	<b>Unité A</b>	<b>Unité B</b>	<b>Unité C</b>	<b>Unité D</b>
<b>Nombre de fermes collectées</b>	5 à 10	20	20	5
<b>Effluents d'élevage totaux traités (m3/an)</b>	20 000	38 000	24 000	9 000
<b>Déchets totaux traités (m3/an)</b>	24 000	79 000	35 000	37 000
<b>Type de pasteurisation</b>	Batch	Batch	Semi continu	Batch
<b>Type de digestion anaérobie</b>	Thermophilie	Mésophilie	Mésophilie	Mésophilie 2 digesteurs

***Tableau n°7 : Caractéristiques des unités de méthanisation***

Les résultats sont synthétisés dans le tableau n°8.

Il faut remarquer que les bactéries sporulées *Clostridium perfringens* ne sont pas influencées par aucuns traitements.

La pasteurisation réduit immédiatement les bactéries pathogènes en dessous du seuil de détection prévu par la réglementation. Toutes les bactéries indicatrices sont inactivées sauf les sporulées. Il n'y a plus de *Salmonelle* ni *Coliforme* après pasteurisation, ce qui confirme

l'étude de Ward (disparition après pasteurisation à 70°C pendant 30 minutes). Les *Entérocoques*, *Listeria* et *Escherichia coli* sont aussi absents.

Par contre, après digestion, il y'a une re-contamination et croissance de certaines bactéries (*Coliforme* et *Entérocoque*) mais leur nombre est tout de même inférieur à celui dans les intrants initiaux.

Il y'a encore une re-croissance de ces bactéries lors du stockage du digestat à la ferme qui peut s'expliquer par la persistance des bactéries après pasteurisation, la présence d'autres bactéries sur le site de stockage à la ferme, ou une re-contamination lors du transport à la ferme (réservoir identique pour apporter le lisier à traiter et pour récupérer le digestat), d'où l'importance de l'hygiène lors des manutentions (lavage des réservoirs ou avoir des réservoirs différents).

	<b>Avant pasteurisation</b>	<b>Après pasteurisation</b>	<b>Sortie digesteur</b>	<b>Stockage</b>	<b>Stockage ferme</b>
<b>Coliformes</b>	10 <sup>5</sup>	0	10 <sup>0,2</sup>	10	10 <sup>2</sup>
<b>Enterococcus</b>	10 <sup>4,5</sup>	0 (10 sur 1 échantillon)	10 <sup>0,8</sup>	10	10 <sup>3</sup>
<b>Clostridium perfringens</b>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>
<b>Salmonella</b>	Présence dans 4 échantillon	Présence dans 1 échantillon (bradenburg)	0	0	Présence dans 4 échantillons (agona)
<b>Listeria</b>	Présence dans 1 échantillon (monocythogène)	0	0	0	0
<b>E coli</b>	Présence dans 4 échantillons	0	0	0	Présence dans 1 échantillon

**Tableau n°8 : Nombre de bactéries pathogènes présentes à différents postes (moyenne des installations)**

## **2-Boues de station d'épuration**

### **A-Bactéries pathogènes**

Les résultats relatifs à la réduction de bactéries pathogènes pouvant être présentes dans les boues d'épurations sont uniquement issus d'expériences en laboratoires.

#### **- Température de digestion**

Les résultats d'expériences en laboratoire sur la réduction des bactéries pathogènes contenues dans les boues de STEP ne sont pas en faveur de la digestion anaérobie mésophile. Bien qu'une réduction du nombre de bactérie soit observée, cette réduction est insuffisante, le nombre de pathogènes présents dans le digestat est trop important d'un point de vue réglementaire.

Les résultats de l'expérience de **Horan (2003)** sont synthétisés dans le tableau n°9. La digestion anaérobie mésophile à 35°C permet au moins une réduction de 2 log de toutes les bactéries étudiées sauf *Campylobacter jejuni* qui, au contraire, croit. Ce qui confirme les résultats des expériences de **Smith (2003)**. Bien qu'il y ait peu de marges de manœuvre, une réduction des *Escherichia coli* de 10<sup>2</sup> en 20 jours en système d'alimentation continue mésophile est possible dans des conditions optimales (peu de zone morte et beaucoup d'agitation).

	Présence initiale	Réduction à 15 jours de digestion anaérobie	Réduction à 22 jours de digestion anaérobie
<b><i>S senftenberg</i></b>	10 <sup>6,5</sup>	10 <sup>2,23</sup>	10 <sup>1,91</sup>
<b>L monocythogène</b>	10 <sup>6,2</sup>	10 <sup>2,23</sup>	10 <sup>1,82</sup>
<b>E coli</b>		-	10 <sup>1,66</sup>
<b>C jejuni</b>		Pas de réduction	Pas de réduction

**Tableau n°9 : Réduction des bactéries à 35°C au jours 15 et 22**

Les expériences de **Smith (2005)** sont en faveur de la digestion thermophile à 55°C. Les résultats de ses expériences sont illustrés dans le tableau n°10. Les bactéries entériques sont rapidement inactivées : *Eschérichia coli* a un T90 de 2,1 à 2,6 minutes suivant les espèces et *Salmonella* a un T90 de 3 minutes.

	T90 dans les boues liquides En minute
<b><i>E coli NCTC 9001</i></b>	2,1
<b>E coli 0148</b>	2,4
<b>E coli 0158</b>	2,6
<b>S oranienburg</b>	2,9
<b>S senftenberg</b>	3,2

**Tableau n°10 : Valeur des T90 des bactéries entériques à 55°C dans les boues liquides**

- **Pasteurisation**

Selon **Smith (2005)**, des pré traitements permettent encore d'éliminer des bactéries. Par exemple, la pasteurisation à 70°C permet d'inactiver toutes les espèces des bactéries *Escherichia coli* et *Salmonella* en 10 secondes.

- **Stockage aérobie**

Selon **Horan (2003)**, après une digestion anaérobie mésophilique, un stockage aérobie pendant deux semaines (14 jours) est nécessaire pour hygiéniser le digestat et permettre aux bactéries pathogènes de se retrouver en dessous du seuil de détection prévu par la réglementation. Les résultats sont répertoriés dans le tableau n°11. A noter que *Campylobacter jejuni* n'est réduit que de 10<sup>0,36</sup> par la microaérophilie, ce qui confirme que l'oxygène est reconnu pour l'inactiver.

	Réduction digestion anaérobie	Réduction stockage aérobie	Réduction totale
<i>S senftenberg</i>	$10^{2,23}$	$10^{2,1}$	$10^{4,33}$
<i>L monocytohène</i>	$10^{2,23}$	-	$10^{2,23}$
<i>E coli</i>	$10^{1,66}$	$10^{1,7}$	$10^{3,36}$
<i>C jejuni</i>	Pas de réduction	$10^{0,36}$	$10^{0,36}$

**Tableau n°11 : Réduction des bactéries après stockage aérobie de 14 jours à 15°C**

- **Déshydratation**

La déshydratation du digestat permet une diminution supplémentaire de  $10^2$  UFC par g de matière sèche des bactéries entériques (Smith, 2005).

- **Chaulage**

Une digestion anaérobie de boues d'épuration suivie d'un traitement à la chaux (10% ou plus) permet une destruction complète des *Salmonella*.

**B-Virus**

Il existe peu de données concernant l'effet de la digestion anaérobie sur les virus. Les résultats les plus fréquents concernent des digesteurs fonctionnant en mésophilie. Ces résultats sont souvent peu favorables à la digestion mésophilique. En effet, la digestion mésophile n'élimine pas complètement les virus pathogènes (Marache, 2001).

**C-Parasites**

L'efficacité de la digestion sur la réduction des parasites dépend aussi de la température de digestion. Les résultats de réduction des parasites pathogènes sont meilleurs en digestion thermophile qu'en digestion mésophile qui paraît impuissante (Marache, 2001).

Selon Alderslade (1980), la digestion anaérobie à 30°C pendant un mois permet la destruction total des Œufs d'Helminthe. Mais cette constatation est controversée par les travaux d'Arther (1981) et ceux de Gaspard (1995) qui observent une résistance de ces œufs lors du même type de traitement avec 66% d'œufs viables.

D'après Pike (1983), la digestion anaérobie thermophile (49°C) durant 10 à 20 jours permet de réduire de 99% la viabilité des Œufs d'Ascaris (le plus résistant des Œufs d'Helminthe), alors que 33% des ces œufs ayant subit une digestion anaérobie mésophile (35°C) restent viables.

### **3-Déchets organiques**

#### **A-Bactérie pathogènes**

##### **- Température de digestion**

Les résultats des expériences en laboratoire de **Termorshuizen (2003)** sont mitigés concernant la digestion mésophile. Même si les *Enterobacteriaceae* subissent une forte réduction (triple réduction) en 21 jours, cette réduction n'est pas tout à fait suffisante car elles se retrouvent présentes à  $1,2 \times 10^3$  UFC/g. Par contre, le digestat est très toxique sur les *Salmonella typhimurium* qui sont indétectables.

Selon **Sahlström (2003)**, la digestion en thermophilie à 55°C en système continu est plus efficace, les *Salmonella* et *Mycobacterium paratuberculosis* sont inactivées dans les 24 heures alors qu'il nécessite des semaines voir des mois en mésophilie.

Par contre, les digestions anaérobie thermophile et mesophile n'ont aucun effet sur la réduction des spores *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens*.

##### **- Système continu ou discontinu**

La digestion anaérobie en discontinu est plus efficace que la digestion en continu sur la réduction des bactéries pathogènes. La réduction des *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogène*, *Yersina enterocolitica* est plus importante en système discontinu par rapport en système continu. De plus, *Mycobacterium paratuberculosis* ne subit pas de réduction en digestion mesophile en continu alors qu'ils sont tous détruits après un mois de digestion mésophile en discontinu et après trois heures de digestion thermophile en discontinu (**Sahlström, 2003**).

##### **- Pasteurisation**

Les *Salmonella* et *Coliformes fécaux (enterococcus)* ne re-croissent pas si le substrat est pasteurisé à 70°C pendant au moins 30 minutes. Les *Salmonella* ne survivent pas plus de 5 minutes à 70°C (**Sahlström, 2003**).

Cependant, la pasteurisation n'a aucun effet sur la réduction des bactéries sporulées (**Sahlström, 2003**).

##### **- AGV et pH**

Les AGV et le pH peuvent être des facteurs de réduction de certaines bactéries. Par exemple, ils ont un effet toxique sur les *Escherichia coli* et sur les *Salmonella*. La toxicité des AGV est fonction du pH : un niveau élevé d'AGV et un pH acide entraînent une meilleure inactivation des *Salmonella*. Par exemple, la toxicité des AGV sur *Salmonella typhimurium* est plus élevée à un pH de 4 qu'à un pH de 5 (**Sahlström, 2003**).

##### **- Concurrence entre les bactéries**

La concurrence entre les bactéries joue un rôle sur la réduction des bactéries pathogènes. Dans un digesteur en continu, le T90 des *Campylobacter jejuni* est plus élevé que celui des *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogènes* et *Yersina enterocolitica*. En effet, les *Campylobacter jejuni* utilisent les acides aminés et vitamines qui ne sont pas utilisés par les autres bactéries, ainsi ils peuvent se développer plus facilement car la concurrence est

faible. Par contre, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Yersina enterocolitica* utilisent les glucides qui sont aussi utilisé par d'autres bactéries non méthanogènes, la concurrence est donc importante (Sahlström, 2003).

## ***B-Champignons***

Les effets de la digestion anaérobie sur les champignons ont été étudiés en laboratoire.

### **- *Température de digestion***

Les résultats sont mitigés concernant les températures de digestion. Selon **Schnürer (2005)**, la digestion anaérobie permet de réduire une majorité de champignons mais les champignons thermo-tolérants survivent à cette technique.

Certains champignons, notamment les genres *Aspergillus*, *Talaromyces* et *Byssoschlamys*, peuvent survivre à toutes les ambiances du digesteur, ils peuvent survivre avec peu d'oxygène et à des températures assez élevées.

La digestion mésophile n'a aucun effet sur la réduction des champignons (présence finale à  $10^3$  UFC par gramme de déchet) et la digestion thermophile permet une légère réduction (présence finale  $10^2$ ). Mais, il y'a une diminution du nombre de genres présents (en mésophilie et thermophilie) : seulement trois genres sont retrouvés dans le digestat (au lieu de neuf présents initialement), dont deux genres dominants qui vivent dans le sol et produisent des ascospores résistants à la chaleur : *Talaromyces* et *Paecilomyces*. Deux espèces de *Paecilomyces* ont été identifiées : *P byssocys nivea* (présence à  $10^3$  après mésophilie et  $10^2$  après thermophilie) et une espèce inconnue ( $10^3$  après mésophilie). Quatre espèces de *Talaromyces* ont été détectées : *T emersonii* ( $10^3$  après 37°C), *T leycettanus* ( $10^2$  après 37°C et 55°C), *T byssoschlamydoïdes* ( $10^2$  après 37°C) et *T bacillisporus* ( $10^1$  après 37°C et  $10^2$  après 55°C).

La réduction en thermophilie est plus rapide sur les *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium roqueforti* et *Ralstonia pusillus*. Il est peu probable que ces champignons se retrouvent dans le digestat après une digestion thermophile. Leur T90 est de 0,02 à 0,05 jour en thermophilie alors qu'il est de 0,83 à 10 jours en mésophilie.

Par contre, la réduction des *Thermoascus crustaceus*, *Thermomyce lanuginosus* est plus rapide en mésophilie qu'en thermophilie car ces champignons thermo-résistants ont une croissance maximale au dessus de 50°C. Leur T90 est de 30 jours en thermophilie.

Les résultats d'expériences de **Termorshuizen (2003)** montrent que les champignons pathogènes *Fusarium oxysporum* et *Ralstonia solanacearum* subissent une forte réduction et sont rapidement inactivés (survie inférieure à 0,1%) et indétectables après une digestion anaérobie mésophile à 35-37°C. Néanmoins, il n'y a pas de relation entre l'inactivation de ces deux pathogènes et la concentration en AGV. Cependant, ces pathogènes ne sont peut être pas réellement tués, ils peuvent aussi seulement changer d'état, notamment les champignons *Fusarium oxysporum*. Même si le phénomène de changement d'état est encore mal connu, la dormance des structures de survie des jeunes champignons existe.

Aucune hernie causé par *Plasmodiophora brassicae* n'a été décelée, hormis une petite infection sur une expérience.

La digestion mésophile n'a aucun impact sur *S cepivorum*. Ils sont tous présents dans le digestat, ce qui peut engendrer un risque phytosanitaire.

### - **Pasteurisation**

Les résultats des expériences de **Schnürer (2005)** démontrent que la pasteurisation du déchet n'est pas suffisante pour éliminer tous les champignons pathogènes. Même si elle permet de réduire tous les champignons inoculés en dessous du seuil de détection ( $10^2$  unité formant une colonie par gramme de déchet), la réduction de *Thermomyces lanuginosus* (présent à  $10^3$ ) n'est pas suffisante.

*Thermoascus crustaceus* est réduit en dessous du seuil de détection à partir de 52 et 57°C. *Thermomyces lanuginosus* commence à subir une réduction vers 55°C mais cette réduction est insuffisante et moins rapide que celle de *Thermoascus crustaceus*.

### - **Stockage aérobie**

Selon **Schnürer (2005)**, un stockage aérobie du digestat pendant un mois est nécessaire pour réduire le nombre de champignon en dessous du seuil de détection. Les conditions dans le digestat ne sont pas favorables à la croissance et survie des champignons, le rapport C/N diminue au cours du stockage aérobie, ce qui influence négativement les champignons.

Les champignons sont réduits par la digestion aérobie, plus ou moins rapidement en fonction des genres. Les champignons initialement présents dans le déchet sont réduits de  $10^3$  à 1-10 UFC par gramme de déchet.

Le T90 des *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium roqueforti*, *Ralstonia pusillus* est de 2 à 5 jours quelques soit la température. Les champignons les plus thermo-résistants sont réduits en quelques semaines, même *Thermomyce lanuginosus* qui n'était pas réduit en dessous du seuil de détection par la pasteurisation (T90 de 11 jours). Le T90 le plus important est celui de *Thermoascus crustaceus* : 32 jours.

## **C-Virus**

Aucune donnée concernant la réduction des virus pouvant être présents dans les déchets organiques n'a été trouvée.

## **D-Parasites**

Aucune donnée concernant la réduction des parasites pouvant être présents dans les déchets organiques n'a été trouvée.

## **Conclusion**

La digestion anaérobie est un outil de traitement des déchets appliquée à de nombreux types de substrats, le plus souvent en vue de leur recyclage par épandage agricole. L'une des questions clés dans la problématique du recyclage agricole de ces produits porte sur le devenir des micro-organismes pathogènes et des micro-polluants (métaux lourds, micro-polluants organiques). De nombreux travaux de recherche ont été entrepris en Europe autour des nouvelles installations de méthanisation.

La recherche documentaire présentée s'appuie uniquement sur des articles traitant du devenir des agents pathogènes.

La digestion anaérobie ne semble pas pouvoir toujours résoudre le problème des agents pathogènes contenu dans les effluents traités. La digestion anaérobie thermophile est un procédé hygiénisant du point de vue des germes pathogènes, à la différence des procédés mésophile, qui doivent s'appliquer soit à des produits non contaminés, soit être complétée par des traitements hygiénisants (pasteurisation, compostage...), avec lesquels la digestion se situe plutôt en complémentarité qu'en concurrence.

L'efficacité de la méthanisation contre les pathogènes ne se limite pas à des simples considérations de température. En effet, d'autres facteurs entrent en jeu, et notamment la grande variété de procédés de digestion anaérobie qui crée de nombreux cas particuliers. Cette grande diversité rend difficile l'obtention de résultats généralisables.

## ***Bibliographie***

Smith, Lang, Cheung, Spanoudaki, 2005. *Factors controlling pathogen destruction during anaerobic digestion of biowaste*. Centre for environmental control and waste management, department of civil and environmental engineering, South Kensington campus, London, UK. *Waste management* 25 (2005) 417-425

Bagge, Sahlström, Albin, 2005. *The effect of hygienic treatment on the microbial flora of biowaste at biogas plants*. National veterinary institute, Uppsala, Sweden. *Water research* 39 (2005) 4879-4886

Schnurer, 2005. *Fungal survival during anaerobic digestion of organic household waste*. Swedish university of agricultural sciences, Uppsala, Sweden. *Waste management* 26 (2006) 1205-1211

Heinonen-Tanski, Mohaibes, Karinen, Koivunen, 2006. *Methods to reduce pathogen microorganisms in manure*. Department of environmental sciences, University of Kuopio, Kuopio, Finland. *Livestock science* 102 (2006) 248-255

Paavola, Rintala, 2008. *Effects of storage on characteristics and hygienic quality of digestates from four co-digestion concepts of manure and biowaste*. Department of biological and environmental science, University of Jyväskylä, Finland. *Bioresource technology* 99 (2008) 7041-7050

Thermorshuizen, Volker, Blok, Brummeler, Hartog, Janse, Knol, Wenneker, 2003. *Survival of human and plant pathogens during anaerobic mesophilic digestion of vegetable, fruit, and garden waste*. Netherlands. *European journal of soil biology* 39 (2003) 165-171

Horan, Fletcher, Betmal, Wilks, Keevil, 2003. *Die-off of enteric pathogens during mesophilic anaerobic digestion*. University of Leeds, University of Southampton, UK. *Water research* 38 (2004) 1113-1120

Sahlström, 2002. *A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants*. National veterinary institute, Uppsala, Sweden. *Bioresource technology* 87 (2003) 161-166

Marache, 2001. *Méthanisation des effluents et déchets organiques : état de connaissance sur le devenir pathogène*. Université de Toulouse, France. Thèse

Watcharasukarn, Kaparaju, Steyer, Krogfelt, Angelidaki, 2009. *Screening Escherichia Coli, Enterococcus faecali and Clostridium perfringens as indicator organisms in evaluating pathogen-reducing capacity in biogas plants*. Denmark. Springer science (05.03.2009)

Aitken, Sobsey, Van Abel, Blauth, Singleton, Crunk, Nichols, Walters, Schneider, 2007. *Inactivation of Escherichia Coli 0157:H7 during thermophilic anaerobic digestion of manure from dairy cattle*. Department of environmental sciences and engineering, school of public health, University of North Carolina, USA. Water research 41 (2007) 1659-1666

Bendixen, 1999. *Hygienic safety: results of scientific investigations in Denmark (sanitation requirements in Danish biogas plants)*. Universität Hohenheim, Stuttgart. IEA Bioenergy Workshop, Hohenheim, Germany, p. 27-47

Colleran, 2000. *Hygienic and sanitation requirements in biogas plants treating animal manures or mixtures of manures and other organic wastes*. Department of microbiology, National institute of Ireland, Galway. Anaerobic Digestion : Making energy and solving modern waste problems. Ed. H. Ørtenblad. AD-NETT, Herning Municipal Authorities, Denmark. p. 77-86

Chauvin, 2004. *La réglementation française sur la valorisation agronomique des déchets organiques*. ADEME Bretagne, France

Wuart et Deportes, 1999. *Epannage de boue d'épuration sur prairies et cultures fourragères, Aspects microbiologiques*. ADEME, département agriculture et alimentation, France

Le traitement des déchets : les principaux textes réglementaires applicables. Ministère de l'écologie, de l'énergie, du développement durable et de la mer, France

Directive européenne 1774/2002/EC