

ENV Toulouse, 2006

# THÈSE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

## Maîtrise de la sécurité bactériologique des effluents de porcherie

Ludovic MAVIT

6608-2006-027

Toulouse, 2006

**NOM** : MAVIT

**PRENOM** : LUDOVIC

**TITRE** : Maîtrise de la sécurité bactériologique des effluents de porcherie.

**RESUME** : Les rejets porcins sont des milieux biologiques contenant une grande quantité et une grande diversité de bactéries. Leur épandage sur cultures ou sur prairies présente des risques sanitaires pour l'Homme et les animaux. L'eau constitue un excellent véhicule et la contamination de circuits d'eau potable a déjà occasionné des crises sanitaires. Des prélèvements ont été réalisés sur la filière de gestion des déjections porcines. Pour l'élevage de porcs sur caillebotis prélevé, l'utilisation des méthodes moléculaire et culturale montre une stabilité dans le temps des populations microbiennes sur chaque étape de la filière avec des changements lorsque le lisier passe d'une étape à une autre. Pour les élevages de porcs sur litière prélevés, la méthode culturale a permis de vérifier l'assainissement que permet le compostage. Enfin, il n'est pas constaté de modification significative de la population bactérienne du sol suite à l'épandage de lisier porcin.

**MOTS CLES** : PORCHERIE, PATHOGENE, EFFLUENT D'ELEVAGE, ENVIRONNEMENT, LISIER, FUMIER, LITIERE.

---

**TITLE** : Control of bacteriologic safety of pig effluents.

**ABSTRACT** : Swine manure are biologic environments containing a huge amount and a great diversity of bacterias. Their spreading on fields and pastures entails infectious risks for animals and humans. Water is an excellent vehicle and outbreaks associated with contamination of treated water supply have already been reported. Samples were withdrawn over all the pig faeces management process. For the sampled farm on grating, the use of molecular and cultural methodologies showed a stability during time of the microbial population on each step of the process with changes whenever slurry was shifting from one step to another one. For the three sampled farms on bedding, bacteriologic cleansing by composting has been checked by the cultural methodology. Finally, a bacteriologic monitoring of spread soils with pig slurry did not reveal significant modifications between before and after spreading.

**KEY WORDS** : PIGGERY, PATHOGEN, FARM WASTE, ENVIRONMENT, SLURRY, MANURE, BEDDING.

# Remerciements

A notre président de thèse,

**Madame le Professeur Nicole MARTY**

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

*Bactériologie-virologie-hygiène*

Qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre thèse  
Hommage respectueux

A notre jury de thèse,

**Monsieur le docteur Hubert BRUGERE**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*

Pour son renseignement et sa confiance en ce projet. Qu'il veuille bien accepter  
le témoignage de ma profonde reconnaissance.

**Monsieur le docteur Pierre SANS**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Productions Animales, Economie*

Pour son aimable participation au jury de notre thèse, sincères remerciements

*A Patrick DABERT, Chargé de Recherche à l'INRA de Narbonne  
A Monique KEROUREDAN de l'UMR INRA/ENVT « Interactions Hôtes – Agents pathogènes »*

*Pour leur concours précieux pour les prélèvements et leurs analyses ayant servis dans l'élaboration de cette thèse.*

*A mes parents, à ma sœur,  
A ma famille,  
Pour leur amour qu'ils me donnent,*

*A Bibi, à Condor, à Guizmo,  
A La Pescajoune,  
Pour les souvenirs « qui ont l'attitude » et ceux à venir,*

*A Fabrice,  
A Ludrice,  
Pour notre complicité fraternelle,*

*Aux amis,  
Pour les souvenirs, les services rendus et le plaisir de les retrouver,*

*A Serge Vialle,  
Pour son accompagnement dans mes premiers pas dans l'exercice professionnel.*

# Table des matières

Introduction

## Etude bibliographique

<b>1. Productions porcines et problématique environnementale.....</b>	<b>18</b>
1.1. Production des rejets porcins.....	18
1.1.1. Gestion des porcs sur caillebotis.....	18
1.1.2. Gestion des porcs sur litière.....	19
1.1.2.1. Litières « raclées » et litières « accumulées ».....	19
1.1.2.2. Litières « biomâtrisées ».....	19
1.1.3. Volume des rejets porcins.....	19
1.1.3.1. En élevage sur caillebotis.....	20
1.1.3.2. En élevage sur litière.....	22
1.2. Utilisation des rejets porcins à des fins agronomiques et risques environnementaux..	23
1.2.1. Valeurs fertilisantes des effluents de porcherie.....	23
1.2.2. Impacts environnementaux des pratiques d'épandage.....	25
1.2.2.1. Excédents fertilisants et pollution des eaux.....	25
1.2.2.2. Odeurs, gaz à effet de serre et pollution de l'air.....	26
1.2.2.3. Métaux lourds et pollution du sol.....	27
1.2.2.4. « Pollution microbiologique ».....	28
1.3. Encadrement réglementaire de la gestion des effluents de porcherie.....	29
1.3.1. Apports maximaux d'azote.....	29
1.3.2. Pratiques d'épandage : réglementation et bonnes pratiques.....	29
<b>2. Evaluation des risques sanitaires microbiologiques des rejets porcins</b>	<b>33</b>
2.1. Caractéristiques bactériennes des rejets porcins.....	33
2.1.1. La flore fécale porcine.....	33
<b>Animal.....</b>	<b>34</b>
<b>Coliformes fécaux.....</b>	<b>34</b>
<b>Streptococci.....</b>	<b>34</b>
<b>Bacteroides.....</b>	<b>34</b>
<b>Lactobacilli.....</b>	<b>34</b>
2.1.2. Caractéristiques physico-chimiques et microbiennes des rejets porcins	35
2.2. Identification des principaux dangers sanitaires.....	37
2.2.1. Les dangers microbiens.....	38
2.2.1.1. Les dangers parasitaires.....	38
2.2.1.2. Les virus.....	39
2.2.1.3. Les dangers bactériens.....	41
<b>2.2.1.3.1. Dangers bactériologiques majeurs.....</b>	<b>41</b>
2.2.1.3.1.1. Escherichia coli entérohémorragiques.....	41
2.2.1.3.1.2. Salmonella spp.....	46
2.2.1.3.1.3. Campylobacter spp.....	51
CNRSS.....	50
<b>Espèce.....</b>	<b>52</b>
Nombre de prélèvements.....	52
<b>C. jejuni.....</b>	<b>52</b>

Sources de données.....	53
Réseau Sentinelles.....	53
<b>2.2.1.3.2. Dangers bactériologiques mineurs.....</b>	<b>54</b>
2.2.1.3.2.1. <i>Yersinia enterocolitica</i> .....	54
2.2.1.3.2.2. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	56
2.2.1.3.2.3. <i>Leptospira interrogans</i> .....	58
2.2.1.3.2.4. Entérocoques et entérococcies.....	59
2.2.2. Quand un danger en cache un autre : la transmission de gène d'antibiorésistance.....	60
2.2.2.1. Mécanismes de sélection de souches « antibiorésistantes ».....	60
<b>2.2.2.1.1. Deux exemples de sélection de bactéries résistantes dans la microflore de l'intestin des porcs.....</b>	<b>61</b>
2.2.2.1.2. Dissémination et facteurs de transfert des gènes de résistance dans l'environnement (Sengeløv et al., 2002).....	61
<b>2.2.2.1.3. Un exemple de persistance de résidus d'antibiotiques dans l'environnement : les tétracyclines.....</b>	<b>62</b>
<b>2.2.2.1.4. Persistance des gènes de résistance dans l'environnement.....</b>	<b>62</b>
<b>2.2.2.1.5. Existence de souches multirésistantes majeures.....</b>	<b>63</b>
2.2.2.2. Antibiorésistance et dangers sanitaires bactériens majeurs chez le porc et chez l'homme.....	64
<b>2.2.2.2.1. Escherichia coli entérohémorragiques.....</b>	<b>64</b>
<b>2.2.2.2.2. Salmonella spp.....</b>	<b>65</b>
Antibiotique.....	66
Enteritidis.....	66
Typhimurium.....	66
<b>Gentamicine.....</b>	<b>66</b>
<b>2.2.2.2.3. Campylobacter spp.....</b>	<b>67</b>
2.3. Exposition aux dangers sanitaires bactériens des rejets porcins.....	69
2.3.1. Voies de contamination pour l'homme.....	69
2.3.2. Les infections liées à la contamination de l'eau potable.....	71
2.3.2.1. Contamination des réseaux collectifs d'eau potable.....	71
2.3.2.2. Contamination des points de collectes d'eau privés.....	72
2.3.3. Les infections liées à la contamination d'aliments par les rejets porcins.....	73
2.4. Facteurs conditionnant les risques.....	74
2.4.1. Prévalence des bactéries potentiellement pathogènes dans les rejets porcins.....	74
2.4.1.1. <i>Escherichia coli</i> entérohémorragique.....	76
2.4.1.2. <i>Salmonella</i> spp.....	77
2.4.1.3. <i>Campylobacter</i> spp.....	77
2.4.2. Survie des bactéries après épandage.....	78
2.4.2.1. Nature du milieu et température.....	78
2.4.2.2. Conditions microbiologiques du milieu.....	79
2.4.2.3. Survie après épandage.....	80
2.4.3. Les conditions météorologiques.....	82
2.4.4. Les conditions géologiques.....	83
<b>3. Contrôle de la population microbienne des rejets porcins par stockage et traitement.....</b>	<b>84</b>
3.1. Les systèmes de traitement des rejets porcins.....	84
3.1.1. En élevage sur caillebotis.....	84
3.1.1.1. Survie des bactéries au cours du stockage des déjections porcines.....	85
3.1.1.2. Effets de différents systèmes de traitement des lisiers sur la survie bactériologique.....	87
3.1.2. En élevage sur litière.....	90

3.2. A la recherche d'indicateurs de pollution bactériologique.....	92
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>95</b>
<b>1. Cadre de l'étude expérimentale.....</b>	<b>99</b>
1.1. Le programme européen « Green Piggery ».....	99
1.2. Le Groupement d'Intérêt Scientifique « Porcherie Verte ».....	100
1.3. Dynamique des écosystèmes microbiens et survie des pathogènes dans les effluents porcin.....	101
<b>2. Matériels et méthodes.....</b>	<b>102</b>
2.1. Choix des élevages.....	102
2.1.1. Elevage sur caillebotis.....	102
2.1.2. Elevage sur litière.....	103
2.2. Réalisation des prélèvements.....	104
2.2.1. Elevage sur caillebotis.....	104
2.2.2. Elevage sur litière.....	104
2.3. Méthodes d'analyse.....	105
2.3.1. Technique moléculaire.....	105
2.3.1.1. Principe de la PCR-SSCP.....	105
2.3.1.2. Application à l'étude.....	106
2.3.1.3. Identification par séquençage et analyse phylogénétique.....	107
2.3.2. Technique culturale.....	109
2.3.2.1. Préparation des prélèvements avant mise en culture.....	109
2.3.2.2. Mise en culture.....	109
<b>2.3.2.2.1. Entérobactéries, Escherichia coli, entérocoques.....</b>	<b>109</b>
<b>2.3.2.2.1. Salmonelles et Listeria.....</b>	<b>110</b>
<b>3. Résultats.....</b>	<b>111</b>
3.1. Analyse de la communauté bactérienne du lisier par la méthode moléculaire.....	111
3.1.1. Suivi de la communauté des Eubactéries du lisier.....	111
3.1.1.1. Présentation des profils Eubactéries.....	111
3.1.1.2. Suivi des profils Eubactéries sur la filière lisier.....	112
3.1.2. Suivi des groupes microbiens majoritaires du lisier.....	115
3.1.2.1. Présentation des profils des groupes spécifiques.....	115
3.1.2.1. Comparaison du profil Eubactéries du lisier aux profils des groupes spécifiques.....	115
3.1.2.2. Suivi des profils des groupes microbiens majoritaires sur la filière.....	117
3.2. Suivi bactériologique des effluents porcins par la technique culturale.....	121
3.2.1. Présentation des résultats.....	121
3.2.2. Suivi bactériologique du lisier.....	122
3.2.2.1. Suivi des bactéries indicatrices : entérobactéries, coliformes et entérocoques.....	122
3.2.2.2. Suivi de pathogènes potentiels.....	126
<b>3.2.2.2.1. Escherichia coli et entérocoques.....</b>	<b>126</b>
<b>3.2.2.2.2. Salmonelles et Listeria.....</b>	<b>126</b>
3.2.3. Suivi bactériologique du fumier.....	128
3.2.3.1. Suivi des bactéries indicatrices : entérobactéries, coliformes et entérocoques.....	128
<b>3.2.3.2.1. Escherichia coli et entérocoques.....</b>	<b>131</b>
<b>3.2.3.2.2. Salmonelles et listeria.....</b>	<b>131</b>
<b>4. DISCUSSION.....</b>	<b>132</b>

*Conclusion générale*

*Bibliographie*



# Liste des tableaux

Tableau 1 : Volume de lisier produit mensuellement par porc. Extrait de la circulaire du Ministère de l'Agriculture du 12/11/1991 et repris par Texier (2001).....	21@~
Tableau 2 : Volume d'eau de lavage utilisée par portée (gestante, allaitante) ou par animal produit (porcelet, porc à l'engrais) (Levasseur, 1998).....	21@~
Tableau 3 : Litière nécessaire et volume des rejets produit par un porc au cours de son engraissement (en alimentation « soupe ») (selon ITP) (Texier, 1999).....	22@~
Tableau 4 : Composition des lisiers et fumiers de porcs à l'engrais avant stockage (références ITP) (Texier, 2001).....	24@~
Tableau 5 : Origine et potentiel réchauffant des gaz à effet de serre émis par les rejets porcins (Juteau, 2003).....	26@~
Tableau 6 : Dates d'épandage inappropriées pour les fertilisants de type II selon le Code de Bonnes Pratiques Agricoles obligatoires depuis 1999 (Levasseur, 1998).....	31@~
Tableau 7 : Principaux groupes phylogénétiques bactériens auxquels Leser et al (2002) ont affilié les différents phylotypes.....	34@~
Tableau 8 : Composition bactérienne par gramme de fèces pour différentes espèces. (Ricker, 2001).....	34@~
Tableau 9 : Evolution des Syndromes Hémolytiques Urémiques chez les enfants de moins de 15 ans en France de 1996 à 2003 (Haeghebaert, 2000/2001/2002/2003 ; Espié, 2003 ; Vaillant 1999).....	44@~
Tableau 10 : Sérotypes isolés en 2002 à partir du secteur Santé et production animales. (Brisabois, 2003).....	47@~
Tableau 11 : Distribution des sérotypes de Salmonella non-Typhi les plus fréquemment isolés chez l'homme en France de 1997 à 1999. CNRSS. (Vaillant, 2004).....	49@~
Tableau 12 : Estimations du nombre annuel moyen de cas confirmés de salmonellose en France. (Vaillant, 2004).....	50@~
Tableau 13 : Répartition des espèces de Campylobacters isolées dans les selles au CNRHC, de 1986 à 2000 (Mégraud, 2001).....	52@~
Tableau 14 : Estimation du nombre annuel moyen de cas confirmés de campylobactériose en France. (Vaillant, 2004).....	53@~
Tableau 15 : Estimations du nombre annuel moyen de cas confirmés de yersiniose en France. (Vaillant, 2004).....	55@~
Tableau 16 : Nombre annuel de cas confirmés de listériose entre 1997 et 2000. CNR Listeria et Déclarations Obligatoires. (Vaillant, 2004).....	57@~
Tableau 17 : Accumulation de résidus de l'oxytétracycline dans le sol après épandage d'un effluent d'élevage (Hamscher et al., 2001).....	62@~
Tableau 18 : Résistance aux antibiotiques parmi les 361 isolats d'Escherichia coli O157 analysés aux Etats-Unis. (Schroeder, 2002)..	64@~
Tableau 19 : Evolution de la résistance entre 2000 et 2002 chez les 3 principaux sérotypes de Salmonella d'origine Humaine (H) et Non Humaine (NH) (Weill, 2004).....	66@~
Tableau 20 : Evolution des profils de résistances principaux habituellement associés au lysotypes DT104 parmi les souches de Salmonella enterica sérotype Typhimurium entre 2000 et 2002 d'origine Humaine (H) et Non Humaine (NH) (Weill, 2004).....	66@~

<b>Tableau 21 : Résistances à 6 antibiotiques de 317 souches de <i>Campylobacter coli</i> prélevés sur des porcs en abattoirs en France. (Avrain, 2004).....</b>	<b>68@~</b>
<b>Tableau 22 : Exemples où les déjections animales ont été impliqué comme source de pathogènes. (Guan, 2003).....</b>	<b>70@~</b>
<b>Tableau 23 : Pourcentage d'effluent d'élevage de Grande Bretagne contenant un agent de zoonose (Hutchison et al., 2004).....</b>	<b>74@~</b>
<b>Tableau 24 : Synthèse bibliographique de prévalence des principaux agents pathogènes dans les rejets porcins.....</b>	<b>75@~</b>
<b>Tableau 25 : Survie des pathogènes entériques dans des environnements naturels (données en jours) et dans les effluents bovins. Synthèse bibliographique établie à partir de 17 références. (Guan et Richard, 2003) .....</b>	<b>79@~</b>
<b>Tableau 26 : Temps nécessaire pour une réduction d'un Log10 des populations des agents pathogènes après épandage d'effluent d'élevage sur pâtures en été. (Hutchison, 2005).....</b>	<b>81@~</b>
<b>Tableau 27 : Durées les plus longues enregistrées jusqu'à l'absence de détection d'agent pathogène sur les pâtures. (Hutchison, 2005).....</b>	<b>81@~</b>
<b>Tableau 28 : Temps de réduction décimaux calculés à partir d'une régression linéaire des pathogènes pour différents effluents d'élevage liquides. (Hutchison, 2004).....</b>	<b>86@~</b>
<b>Tableau 29 : Rupture de la distribution des pathogènes fécaux dans les 3 constituants du lisier porcin (Watabe et al., 2003).....</b>	<b>88@~</b>
<b>Tableau 30 : Séquences et cibles des différentes amorces utilisées dans l'étude.....</b>	<b>106@~</b>
<b>Tableau 31 : Mise en culture et isolement des entérobactéries, des <i>Escherichia coli</i> et des entérocoques.....</b>	<b>109@~</b>
<b>Tableau 32 : Mise en culture et isolement des salmonelles et des <i>Listeria</i> .....</b>	<b>110@~</b>
<b>Tableau 33 : Identification des pics communs au profil des Eubactéries et aux profils de groupe N.D. : ( Non Déterminé).....</b>	<b>116@~</b>
<b>Tableau 34 : Microorganismes dominants des groupes Clostridiaceae, CFB et BSL persistant le long de la filière lisier depuis les fèces jusqu'à la lagune.....</b>	<b>117@~</b>

# Liste des figures

Figure 1 : Evolution de la composition du lisier en cours de stockage (Levasseur, 1998).....	24@~
Figure 2 : Distribution du nombre de cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans, par âge en France de 1996 à 2001 (Haeghebaert, 2003).....	43@~
Figure 3 : Distribution mensuelle des cas de SHU chez l'enfant de moins de 15 ans, France métropolitaine, 1993-2000. (Haeghebaert, 2002).....	43@~
Figure 4 : Evolution des principaux sérotypes des salmonelles d'origine non humaine depuis 1978. (Brisabois, 2003).....	47@~
Figure 5 : Evolution des principaux sérotypes de Salmonella isolés chez l'Homme (1980-1999). (Bouvet, 2001) .....	49@~
Figure 6 : Nombre de souches de Campylobacter répertoriées au CNR selon l'âge, de 1986 à 2000 (Mégraud, 2001).....	52@~
Figure 7 : Distribution par mois d'isolement, des souches de Campylobacter répertoriées par le CNR de 1986 à 2000 (Mégraud, 2001).....	52@~
Figure 8 : Distribution des cas de listériose en France de 1987 à 1999. (Jacquet, 2001).....	56@~
Figure 9 : Evolution de la résistance aux antibiotiques des Campylobacter coli isolés chez l'homme en France de 1986 à 2002. (Mégraud, 2004).68@~	68@~
Figure 10 : Evolution de la résistance aux antibiotiques des Campylobacter jejuni isolés chez l'homme en France de 1986 à 2002. (Mégraud, 2004).....	68@~
Figure 11 : Schéma de la filière lisier dans l'élevage sur caillebotis choisi pour la réalisation de prélèvements et le suivi bactériologique dans le temps.....	102@~
Figure 12 : Principe de la PCR-SSCP.....	105@~
Figure 13 : Application de la PCR-SSCP à l'étude.....	106@~
Figures 14 a et b : Détails des étapes de PCR (a) et de l'électrophorèse SSCP (b).....	107@~
Figure 15 a et b : Constructions des banques d'ADNr 16S (a) et séquençage (b).....	108@~
Figure 16 : Ensemencement des plaques de 12 puits.....	110@~
Figure 17 : Suivi de la communauté des Eubactéries du lisier le long de la filière d'élevage par PCR-SSCP.....	114@~
Figure 18 : Comparaison du profil Eubactéries (bactéries totales) du lisier aux profils des groupes spécifiques.....	116@~
Figure 19 : Comparaison des profils Clostridiaceae des fèces, du lisier et du sol.....	118@~
Figure 20 : Comparaison des profils Cytophaga – Flexibacter – Bacteroides des fèces, du lisier et du sol.....	119@~
Figure 21 : Comparaison des profils Bacillus – Streptococcus – Lactobacillus des fèces, du lisier et du sol.....	120@~
Figures 22 a, b et c : Suivi chronologique des populations d'entérobactéries, de coliformes et d'entérocoques le long de la filière lisier.....	123@~

<b>Figures 23 : Suivi des entérobactéries, des coliformes et des entérocoques au cours de l'épandage du lisier de la lagune et de la fosse de stockage.....</b>	<b>125@~</b>
<b>Figures 24 : Suivi chronologique des populations de salmonelles et de Listeria le long de la filière lisier.....</b>	<b>127@~</b>
<b>Figures 25 : Suivi chronologique des populations d'entérobactéries, de coliformes et d'entérocoques dans les litières des trois élevages A, B et C. ....</b>	<b>129@~</b>

# *Introduction*



Ces dernières années, l'environnement a pris une place importante dans la gestion des effluents d'élevages axant les efforts de la filière porcine autour des rejets d'azote et de phosphore ainsi que des odeurs et de la qualité de l'air.

Le problème de la présence de pathogènes dans les effluents d'élevage arrive souvent plus loin dans la liste des priorités des problèmes à résoudre ; le vide médiatique sur cet aspect microbiologique n'y étant certainement pas étranger !

Pourtant, des crises sanitaires liées à des pathogènes issus des effluents animaux et associés à des défauts de leur gestion ont déjà été décrites.

Pour optimiser la gestion des effluents de porcherie aux stades du stockage, du traitement et de la valorisation agronomique, il est indispensable d'en connaître leur nature, leurs volumes et leurs compositions ainsi que les principaux facteurs qui feront varier ces caractéristiques. Ce triptyque nature / volume / composition des effluents doit non seulement être abordé au plan physico-chimique mais également au plan microbiologique.

L'évaluation des risques sanitaires microbiologiques est un préalable à la mise en place d'un contrôle de la population microbienne des rejets porcins.

Cette thèse s'axant sur la « sécurité bactériologique », les parasites et les virus y seront abordés succinctement. Le développement de la problématique sur l'aspect Santé Publique sera appuyé avec une insistance particulière ; l'aspect Santé Animale étant abordé en second plan.

Un travail de synthèse bibliographique constitue la première partie. Elle inclut quelques rappels sur les productions porcines et les enjeux environnementaux, apporte des éléments de caractérisation des dangers sanitaires principaux et fait le point sur les connaissances sur l'impact microbiologique du stockage et des éventuels traitements des effluents porcins.

Dans une seconde partie, une étude expérimentale tente d'apporter des éléments supplémentaires sur l'évolution des bactéries dans les effluents porcins tout en comparant deux systèmes d'élevage : l'élevage sur caillebotis et l'élevage sur litière.

*Etude*  
*bibliographique*





Avant d'évaluer les risques sanitaires bactériologiques que peuvent présenter les effluents de porcherie, il convient de faire quelques rappels sur les productions porcines, les enjeux environnementaux et l'encadrement réglementaire de la gestion de leurs déchets.

## **1. Productions porcines et problématique environnementale**

### ***1.1. Production des rejets porcins***

Chaque année, ce sont plus de 28 millions de porcs charcutiers issus des 18 000 élevages spécialisés qui sont abattus en France.

Environ 85 % d'entre eux sont élevés sur caillebotis, 15 % sur litière et une minorité en plein air.

Les rejets qui résultent de la production de porcs sur caillebotis diffèrent de ceux de la production de porcs sur litière, tant de par leur nature que de par leur volume et leur composition.

#### **1.1.1. Gestion des porcs sur caillebotis**

Si l'élevage sur caillebotis s'est si bien répandu, c'est indéniablement par l'économie de temps qu'il permet de réaliser du fait de l'absence de manutention de curage et de paillage. En outre, la récupération des fèces et des urines (mélange communément appelé « lisier ») dans une « préfosse » sous les caillebotis permet la constitution d'un milieu liquide plus facile à gérer.

Le lisier est régulièrement évacué des « préfosses » vers l'extérieur dans une fosse de stockage soit par écoulement continu par gravité sans ajout d'eau (technique du « lisier sans eau »), soit par écoulement discontinu lors de l'ouverture d'une vanne tous les 3 à 5 jours en ajoutant de l'eau (technique du « lisier dilué ») pour faciliter l'évacuation en créant un « effet chasse d'eau ».

La capacité de stockage de cette fosse doit permettre d'accumuler le volume des déjections produites (cf. 1.1.3.) pendant plusieurs mois l'hiver pour que l'épandage soit fait au moment optimum sur les cultures (cf. 1.2.1.). D'autre part, la capacité de stockage doit prévoir le volume d'eau résultant du lavage des salles et, en l'absence de couverture de la fosse, le volume d'eau de pluie additionnel potentiel.

## 1.1.2. Gestion des porcs sur litière

### 1.1.2.1. Litières « raclées » et litières « accumulées »

On distingue deux modes de gestion des litières :

→ **Les litières dites « raclées »** : Le retrait et le renouvellement de la litière sont réguliers (au moins deux fois par semaine). On rencontre ce système de gestion davantage chez les éleveurs naisseurs ;

→ **Les litières dites « accumulées »** : L'éleveur rajoute régulièrement de la litière fraîche sur l'ancienne et l'enlèvement de la litière, beaucoup moins fréquent (un à plusieurs mois), coïncide généralement avec le départ des animaux. On rencontre ce système de gestion davantage chez les éleveurs engraisseurs.

### 1.1.2.2. Litières « biomâtrisées »

Cependant, un troisième mode de gestion des litières est développé chez certains engraisseurs : les **litières dites « biomâtrisées »**.

Le principe repose sur celui du compostage puisque l'on recherche une montée en température de la litière en profondeur par fermentation aérobie de manière à réduire l'humidité du milieu et éliminer les jus.

Pour ce faire, ces éleveurs doivent utiliser un substrat carboné tel que la paille ou la sciure ; cette dernière étant la plus souvent utilisée.

Les éleveurs peuvent utiliser une litière « profonde » de 60 à 80 cm d'épaisseur qu'ils conserveront pour trois bandes d'engraissement au moins ou bien une litière plus fine de 10 à 30 cm qui servira pour une seule bande.

L'un des inconvénients majeur de la méthode est la **nécessité d'aération de la litière** si l'on veut que la fermentation aérobie s'y effectue convenablement et y persiste jusqu'à son renouvellement, c'est-à-dire au moment du départ des animaux. Il faut donc éviter le tassement de la litière par les animaux et travailler régulièrement la litière ce qui **nécessite un investissement en temps** conséquent.

D'autre part, pour favoriser et accélérer cette fermentation, certains éleveurs rajoutent des produits enzymatiques (exemple : SEF-C ® commercialisé par NISSAN) ou des bactéries capables d'activer les micro-organismes des déjections porcines.

## 1.1.3. Volume des rejets porcins

Les rejets porcins résultent des déjections (fèces + urines) qui se mélangent et se diluent avec divers intrants :

- eau pour le lisier (lavage..) en production porcine sur caillebotis
- sciure ou paille pour le fumier en production porcine sur litière

**L'alimentation est le facteur majeur influant sur le volume des déjections produites** (fèces + urines). Ainsi, pour un porc à l'engraissement on aura des volumes très importants de déjections avec une alimentation à base de lactosérum et des volumes moindres avec une alimentation sèche et eau à volonté. Le mode d'**alimentation soupe** est le mode d'alimentation qui permet d'obtenir les plus faibles volumes ; il sera **privilégié en élevage sur litière** afin de limiter les apports en intrant carboné (sciure ou paille).

### 1.1.3.1. En élevage sur caillebotis

Pour les volumes de lisier produit en fonction des stades physiologiques, **Texier (2001)** reprend dans le tableau 1 les valeurs adoptées par le Ministère de l'Agriculture pour l'estimation des quantités de lisier produites, à stocker et à épandre.

Cependant, entre les élevages, des écarts notables peuvent être rencontrés, imputables principalement aux différences d'alimentation (comme nous l'avons vu précédemment), d'abreuvement et de maîtrise de l'eau (ex : fuites d'eau au niveau des abreuvoirs...).

En pratique, lorsque dans un élevage plusieurs âges de porcs et de porcelets se côtoient, les fosses de stockage recueillent le lisier provenant de ces différents stades physiologiques.

**Texier (1999)** estime à **0,9 m<sup>3</sup>** le volume de lisier par porc produit chez un éleveur naisseur-engraisseur dont **0,5 m<sup>3</sup>** sont produit en engraissement en alimentation soupe.

Cependant, il convient de prendre en considération les volumes des deux autres intrants possibles du lisier, à savoir les eaux de lavage d'une part et les eaux de pluie.

*Eaux de lavage :*

Le tableau 2 permet d'évaluer **la proportion moyenne des eaux de lavages parmi le volume de lisier total** : elle s'établirait aux alentours de **12 %**, contribuant ainsi à la dilution du lisier. Les variations de volume d'eau de lavage sont dues à la qualité du nettoyage, au type de matériel utilisé, à la dimension des salles... (**Levasseur, 1998**)

*Pluviométrie :*

La pluviométrie peut aussi faire augmenter la production de lisier. Contrairement à l'élevage bovin, la proportion de la pluviométrie est moindre du fait de l'absence de surfaces d'élevage découvertes.

La dilution par eau de pluie provient donc essentiellement de l'eau de pluie tombant directement dans les fosses extérieures non couvertes et doit être prise en compte dans le calcul de la capacité de stockage.

En période de stockage hivernal (octobre à avril), 500 mm de pluviométrie dans une fosse remplie de lisier à 2 mètres de hauteur réduira aux 4/5<sup>ième</sup> la concentration de lisier initiale. (**Levasseur, 1998**)

En période estivale, le volume d'eau perdu par évaporation est généralement supérieur à celui de l'eau de pluie, concentrant ainsi le lisier. (**Levasseur, 1998**)

**Tableau 1** : Volume de lisier produit mensuellement par porc. Extrait de la circulaire du Ministère de l'Agriculture du 12/11/1991 et repris par **Texier (2001)**

Type d'animal et mode d'alimentation	Volume en m <sup>3</sup> /place/mois
<b>Porcelet</b>	0,08
<b>Porc à l'engrais</b>	
- nourri au lactosérum	0,30
- nourri de concentrés	0,20
- nourri avec machine à soupe	0,12
- nourri avec auge équipée d'abreuvoir intégré	0,10
<b>Truie gestante</b>	0,40
<b>Truie allaitante et porcelets</b>	0,60
<b>Truie présente*</b>	0,45

*\* Lorsqu'il n'y a pas lieu de distinguer truie gestante et truie allaitante, on utilisera la moyenne pondérée de 0.45 m<sup>3</sup>/mois/truie en reproduction*

**Tableau 2** : Volume d'eau de lavage utilisée par portée (gestante, allaitante) ou par animal produit (porcelet, porc à l'engrais) (**Levasseur, 1998**)

Stade physiologique	Eau de lavage (L)	% eau de lavage / Volume de lisier	
		Produit par stade physiologique	Total élevage naisseur-engraisseur
Gestante	90 à 120	9	2,3
Allaitante	160 à 205	31	3,0
Porcelet	12 à 20	19	3,0
Porc charcutier	20 à 30	8	3,7
			<b>TOTAL : 12 %</b>

### 1.1.3.2. En élevage sur litière

**Texier (1999)** reprend les valeurs établies par l'institut Technique du Porc. (cf. Tableau 3)

**Les volumes de fumier générés** par l'élevage porcin sur litière sont très variables d'un élevage à l'autre et **peuvent varier** du simple au double **selon différents facteurs** :

- **le type de gestion de litière** : on constate qu'en engraissement sur litière biomâtrisée on divise par quatre le volume de fumier produit par rapport à une litière accumulée ;
- **les durées d'engraissement** : des volumes supérieurs de fumier peuvent évidemment être associés à des durées d'engraissement prolongées.

**Texier (1999)** estime à **0,4 m<sup>3</sup>** le volume de fumier produit lors de l'engraissement d'un porc en alimentation soupe sur litière de paille accumulée. Selon le même auteur, ce volume pourrait être **divisé par 4** en litière biomâtrisée. (cf. Tableau 3)

**Tableau 3** : Litière nécessaire et volume des rejets produit par un porc au cours de son engraissement (en alimentation « soupe ») (selon ITP) (**Texier, 1999**)

	<b>Litière nécessaire (kg/animal/période)</b>	<b>Fumier produit (m<sup>3</sup>/animal/période)</b>
<b>Litière raclée</b>	30 (paille)	0,32
<b>Litière accumulée</b>	70 à 90 (paille)	0,4
<b>Litière biomâtrisée</b>	70 à 90 (paille)	0,1

*Remarque : 0,4 m<sup>3</sup> de fumier produit équivaut à 330 kg environ (en considérant une densité moyenne de 0,82)*

*Le lisier à l'inverse présente une densité de l'ordre de 0,98 et tolère l'approximation du passage des mètres cubes aux tonnes sans modification de valeur.*

## **1.2. Utilisation des rejets porcins à des fins agronomiques et risques environnementaux**

Quels que soit les procédés de gestion, de stockage et de traitement des rejets porcins, les concentrations résultantes en de nombreux éléments restent bien trop élevées pour autoriser le rejet direct en rivière.

Les rejets porcins, liquides (lisiers) ou solides (fumiers), présentent différents éléments nutritifs susceptibles d'être utilisés par les végétaux : azote, phosphore, potassium, calcium... Leur dissémination sur des cultures ou des prairies est un moyen intéressant de valorisation.

Cependant, l'éleveur doit disposer de suffisamment de surfaces pour épandre les rejets porcins que ses porcs produisent. D'autre part, il doit pouvoir stocker les effluents de sa porcherie pour ne les épandre qu'au moment opportun, c'est-à-dire en période de croissance végétale.

C'est ainsi que les éleveurs porcins disposent de système de collecte, de stockage et d'épandage.

Certains éleveurs ne possédant pas de suffisamment de surface disposent d'un système supplémentaire de traitement de ces rejets afin de diminuer les concentrations azotées et de respecter les exigences environnementales réglementaires (cf. 1.3.1.).

Les effets « néfastes » des déjections animales pour l'environnement sont liés aux éléments qui les composent (cf. 1.2.2.) :

- les éléments nutritifs (azote, phosphore) ;
- les métaux lourds (cuivre) ;
- les odeurs (NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S, AGV) ;
- les germes pathogènes.

### **1.2.1. Valeurs fertilisantes des effluents de porcherie**

Un lisier ou un fumier constituent des engrais complet apportant N, P et K (Azote, Phosphore et Potassium).

Leur utilisation en tant qu'engrais s'en trouve ainsi justifiée. Cependant il convient de connaître d'une part les valeurs fertilisantes de l'effluent à épandre (c'est-à-dire les concentrations N, P et K) et d'autre part les besoins des cultures avant épandage.

Un porc à l'engrais rejette dans ses déjections 60 à 70 % de l'azote et du phosphore qu'il reçoit dans son alimentation. On retrouvera ainsi des quantités notables d'azote et de phosphore dans les rejets (cf. Tableau 4) (**Texier, 2001**)

Durant l'intervalle de temps séparant l'excrétion des déjections porcines de l'épandage, les quantités d'éléments fertilisants (P et K) demeurent constantes hormis l'azote (N) qui diminue du fait de sa volatilisation non négligeable sous forme d'ammoniac, produit par l'action d'uréases présentes dans les fèces sur l'azote uréique, forme organique de l'azote apportée par les urines. (cf. Figure 1) (**Levasseur, 1998**)

Ainsi, on aura une répartition différente azote minéral / azote organique entre le lisier jeune (30/70) et le lisier âgé (70/30) (cf. Figure 1)

Le fumier présente un rapport azote minéral / azote organique plus stable (20 / 80).

Après épandage, une partie de l'azote minéral ammoniacal se volatilise rapidement. La moitié de l'azote organique épandu va se transformer en azote ammoniacal dans les quatre à cinq semaines suivant l'épandage. Cette minéralisation est suivie d'un processus de nitrification transformant l'ion ammonium en ion nitrite puis en ion nitrate absorbable par les cultures.

D'autre part, la volatilisation de l'ammoniac s'effectue tout au long de la filière du lisier et aboutit progressivement à une diminution de la valeur azotée de... :

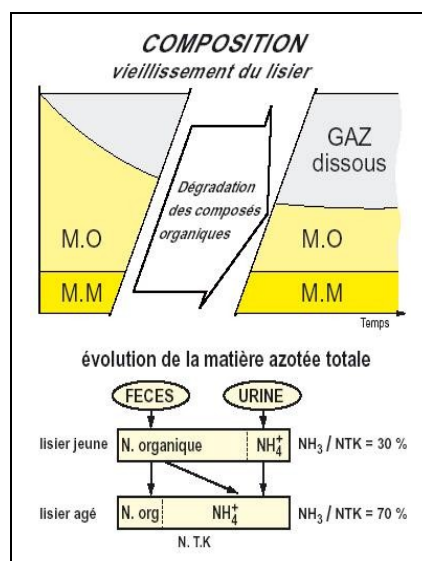
- environ 25 % dans la porcherie dans les « préfosse » ;
- 5 à 15 % au cours du stockage (voire davantage si le lisier est brassé ou aéré) favorisé par le vent et les hautes températures ;
- 5 à 30 % pendant et après l'épandage en fonction de la nature de l'épandage (enfouissement ou non), de la vitesse du vent, de la température de l'air et du sol...

Ainsi, il sera **difficile d'estimer lors de l'épandage la concentration azotée efficace contrairement aux autres valeurs fertilisantes qui demeurent constantes.**

**Tableau 4 :** Composition des lisiers et fumiers de porcs à l'engrais avant stockage (références ITP) (Texier, 2001)

Type de déjections	MS %	N ‰	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ‰	K <sub>2</sub> O ‰
Lisier prélevé sous caillebotis	5,9	5,2	3,2	5,7
Litière accumulée (paille)	23,5	9,7	5,8	9,1
Litière avec sciure	28,2	6,8	6,9	10,5

**Figure 1 :** Evolution de la composition du lisier en cours de stockage (Levasseur, 1998)





## 1.2.2. Impacts environnementaux des pratiques d'épandage

### 1.2.2.1. Excédents fertilisants et pollution des eaux

#### *Les nitrates :*

La fertilisation azotée des sols permet d'obtenir un gain de croissance végétale. Cependant, ce phénomène a une limite : les plantes présentent un optimum de croissance pour un certain niveau azoté du sol au-delà duquel la croissance n'est plus influée et demeure constante.

Ainsi, un apport calculé pour un gain de croissance optimal suffit.

Cependant, du fait des variations des conditions de climat annuelles ou d'autres facteurs limitants (parasites...), l'optimum de croissance espéré n'est pas toujours atteint. On se retrouve alors avec un excès d'azote.

L'azote ammoniacal dans le sol peut soit se volatiliser ( $\text{NH}_3$ ) soit être adsorbé par les colloïdes du sol ( $\text{NH}_4^+$ ). Les réactions de nitrification aboutissent à la formation d'ions nitrates qui, si ils ne sont pas absorbés par les plantes, sont susceptibles d'être entraînés par infiltration et lessivage (eaux souterraines) ou par ruissellement (eaux superficielles).

Les dangers pour la santé publique (**CSE, 2000**) liés aux nitrates sont :

- la méthémoglobinémie du nourrisson (syndrome du « bébé bleu ») : le bébé à la naissance dispose d'une hémoglobine fœtale qui diffère de celle de l'adulte et présente une affinité plus importante pour les ions nitrates ;
- certaines formes de cancer (estomac) : dans l'estomac, les nitrites et les nitrates réagissent avec des groupements aminés pour former des composés qui seraient carcinogènes (N-nitroso) ; ce danger demeure controversé.

#### *Les phosphates :*

Le phosphore excédentaire sous forme de phosphates parvenant par lessivage dans les lacs et les rivières y favorise une telle prolifération d'algues (phytoplancton) que la lumière ne pénètre plus, favorisant ainsi la croissance des cyanobactéries qui consomment l'oxygène et confèrent au milieu des conditions d'anoxie. On parle alors d'**eutrophisation** des lacs et des rivières.

Certaines toxines produites par les cyanobactéries pourraient être cancérigènes. (**CSE, 2000**)

### 1.2.2.2. Odeurs, gaz à effet de serre et pollution de l'air

#### Odeurs :

Les odeurs liées aux rejets porcins posent un problème (assez médiatisé) à l'élevage sur caillebotis du fait des nuisances de voisinage qu'elles occasionnent.

Ces odeurs résultent de 3 principaux composés ou types de composés volatils :

- l'ammoniac ;
- les composés sulfurés ;
- les AGV ou Acides Gras Volatils.

L'élevage serait responsable de 80 % des émissions totales d'ammoniac. Or, outre les désagréments liés à l'odeur occasionnée, l'ammoniac est responsable des pluies acides et de l'atteinte des forêts.

Lors du stockage du lisier et en l'absence de brassage, les fermentations anaérobies devraient théoriquement aboutir à la production de méthane et de gaz carbonique. Mais en réalité, ces réactions de méthanisation sont incomplètes et provoquent l'apparition de ces composés malodorants (composés sulfurés et AGV).

Ces composés volatils sont peu libérés durant l'entreposage du lisier. Le plus fort dégagement se produit lors de la reprise du lisier pour transport et épandage.

#### Gaz à effet de serre :

Méthane (CH<sub>4</sub>), protoxyde d'azote (N<sub>2</sub>O) sont les principaux gaz dits « à effet de serre » émis par les rejets porcins.

En élevage sur litière, la production de méthane lors du compostage est plus faible que lors du stockage du lisier. Mais le protoxyde d'azote, qui présente un potentiel réchauffant supérieur, est produit en plus grande quantité. **(Juteau, 2003)**

**Tableau 5 : Origine et potentiel réchauffant des gaz à effet de serre émis par les rejets porcins (Juteau, 2003)**

	<b>Méthane</b>	<b>Protoxyde d'azote</b>
<b>Origine</b>	→ nitrification → dénitrification incomplète	→ fermentation anaérobie
<b>Potentiel réchauffant</b>	23 fois celui du CO <sub>2</sub>	296 fois celui du CO <sub>2</sub>

### **1.2.2.3. Métaux lourds et pollution du sol**

Certains métaux lourds sont indispensables à très faibles doses pour notre santé. Mais à des doses plus élevées, ils peuvent devenir toxiques. D'autre part, les métaux lourds ont tendance à s'accumuler dans les organismes vivants et, de fait, à se concentrer le long de la chaîne alimentaire. On parle de phénomène de « bioaccumulation ».

Les métaux lourds et polluants stricts comme le cadmium, le chrome, le mercure, le nickel et le plomb sont présents en faible concentration dans le lisier.

En revanche, le Cuivre et le Zinc sont les deux métaux lourds posant problème en élevage porcin. En effet, ils sont ajoutés « en grande quantité » dans l'alimentation des porcs comme facteurs de croissance. Le Zinc (tout comme le fer, le manganèse et le cobalt) serait apporté dans l'alimentation à des doses dépassant les recommandations de l'INRA. Pour le Cuivre, apprécié pour son rôle de facteur de croissance en post-sevrage, les doses apportées dépasseraient de 12 fois les besoins ! **(Levasseur, 2002)**

L'importance environnementale de ces métaux lourds réside dans leur toxicité pour les animaux de pâtures (exemple : intoxication au Cuivre chez les ovins), leur accumulation dans le sol et leur toxicité envers le microbisme du sol.

*Remarque : 20 à 40 g de Cuivre et 30 à 50 g de Zinc se retrouvent dans les effluents lors de l'engraissement d'un porc*

#### **1.2.2.4. « Pollution microbiologique »**

Les tubes digestifs des animaux étant l'hôte de très nombreux micro-organismes, on retrouve ces derniers dans les rejets porcins. Certains peuvent être potentiellement pathogènes, soit pour l'homme, soit pour l'animal, soit pour les deux.

La contamination de l'homme et des animaux dépendra de différents facteurs :

- la présence du pathogène dans l'effluent ;
- la survie du pathogène en quantité suffisante jusqu'à la voie d'exposition ;
- la réalisation de la voie d'exposition.

L'eau demeure un véhicule idéal pour ces pathogènes.

La surveillance d'une éventuelle survenue de « pollution microbiologique » via l'eau de consommation passe par le suivi d'indicateurs de qualité microbiologique.

La France a modifié sa réglementation en matière de qualité de l'eau par le décret 2001-1220 du 20 décembre 2001, "relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles", mettant en conformité le droit français avec la directive européenne du 3 novembre 1998.

Ainsi, depuis décembre 2003, les normes microbiologiques sont simplifiées. Les paramètres *Escherichia Coli* et entérocoques servent d'indicateurs de risque de contamination microbiologique. Les limites de qualité microbiologiques reposent sur le principe que « virus et bactéries pathogènes ne peuvent se trouver dans l'eau en l'absence d'*Escherichia coli* et d'entérocoques » et qu'à l'inverse « il peut y avoir présence d'*Escherichia coli* et d'entérocoques dans l'eau sans que pour autant ne s'y trouvent des virus ou bactéries pathogènes ».

**Limite de qualité microbiologiques de l'eau destinée à la  
consommation humaine**

*Escherichia coli* : 0/100 mL

Entérocoques : 0/100 mL

D'autre part, en plus de contrôles de qualité microbiologique réalisés en aval, des mesures réglementaires encadrent en amont la gestion des effluents d'élevage (cf. 1.3.)

### **1.3. Encadrement réglementaire de la gestion des effluents de porcherie**

Pour faire face à ces problèmes environnementaux, plusieurs gouvernements européens ont mis en place des réglementations quant à l'usage et au stockage des rejets d'origine animales sur des terres cultivées. Ces réglementations reposent sur deux principes :

- faire correspondre les quantités d'éléments nutritifs apportées aux plantes cultivées
- éviter voire limiter ou interdire les épandages dans les zones plus vulnérables.

#### **1.3.1. Apports maximaux d'azote**

Quelle que soit la situation géographique, la réglementation française établit les apports maximaux d'azote (toutes origines confondues) sur les sols :

- interdit sur les cultures de légumineuses ;
- 350 kg/ha/an sur prairie de graminée en place toute l'année ;
- 200 kg/ha/an sur les autres cultures.

Cependant, une limite plus restrictive à 170 Kg/ha/an a été fixée concernant certaines zones :

- les Zones d'Excédent Structurel (arrêté du 2 novembre 1993) :  
*Cantons où la production d'azote de l'ensemble du cheptel dépasse 170 Kg/ha/an*
- les zones dites « vulnérables » (directive CEE/91/676 du 12 décembre 1991 dite « Directive Nitrates ») :  
*Surfaces agricoles qui alimentent des ressources en eaux déjà polluées (> 50 mg de nitrate par litre d'eau) ou susceptibles de l'être*

#### **1.3.2. Pratiques d'épandage : réglementation et bonnes pratiques**

*Exploitations agricoles ne relevant pas de la législation des Installations Classées :*

Le décret du 12 juin 1996 définit des règles pour utiliser les effluents d'origine agricole à des fins agronomiques.

L'épandage des effluents agricoles est ainsi interdit dans les cas suivants :

- dans les eaux superficielles ou souterraines ;
- sur sol gelé ou abondamment enneigé (exception faite des effluents solides) ;
- pendant les périodes de forte pluviosité ;
- sur terre à forte dénivellation entraînant un ruissellement hors du champ ;
- en dehors des terres agricoles régulièrement travaillées et des forêts et prairies exploitées ;
- à moins de 35 mètres des cours d'eau, 50 mètres des forages et des sources et 100 mètres des habitations.

Les exploitations agricoles doivent disposer d'un système de stockage leur permettant de respecter les périodes d'interdiction d'épandage.

Le Règlement Sanitaire Départemental reprend les dispositions de cet arrêté du 12 juin 1996 et peut présenter des mesures supplémentaires propres au département

Ces règles doivent être respectées par tous les élevages.

#### *Exploitations agricoles relevant de la législation des Installations Classées :*

La loi n°76-663 du 19 juillet 1976 et sa mise en application par le décret du 21 septembre 1977 qualifie dans une nomenclature les Installations Classées pour la Protection de l'Environnement (I.C.P.E.) selon 2 catégories :

- Les Installations Classées soumises à autorisation (dangers et/ou nuisances importants pour l'environnement) ;
- Les Installations Classées soumises à déclaration (risques faibles).

Dans cette loi, les ICPE sont définies ainsi : « *Toutes les activités pouvant présenter un risque, des dangers ou inconvénients " soit pour la commodité du voisinage, soit pour la santé, la sécurité, la salubrité publique, soit pour l'agriculture, soit pour la protection de la nature et de l'environnement, soit pour la conservation des sites et des monuments " »*

Ainsi, concernant l'élevage de porcs, Une modification du 28 décembre 1999 établit les seuils suivants :

- plus de 450 animaux équivalents → I.C. soumise à autorisation ;
- de 50 à 450 animaux équivalents → I.C. soumise à déclaration.

#### *Remarque :*

- *Comptent pour un animal équivalent : porcs à l'engrais, jeunes femelles avant la 1<sup>ère</sup> saillie et animal en élevage de multiplication ou sélection.*
- *Comptent pour 3 animaux-équivalents : Les reproducteurs, truies (femelle saillie ou ayant mis bas) et verrats (mâles utilisés pour la reproduction)*
- *Comptent pour 0,2 animal-équivalent : Les porcelets sevrés < 30 kg avant engraissement*

Les Installations Classées sont soumises aux mêmes exigences que précédemment (décret du 12 juin 1996) et à des exigences supplémentaires et complémentaires figurant dans les arrêtés d'autorisation qui ont été notifiés par la préfecture pour l'exploitant agricole en Installation Classée.

Ainsi, comme mesures additionnelles, les élevages relevant de la réglementation des I.C. doivent :

- Respecter des périodes d'interdiction d'épandage (dimanches, jours fériés, du 15 novembre au 15 février et du 1<sup>er</sup> juillet au 31 août) ;
- Réaliser et accomplir un plan d'épandage.

D'autres textes réglementaires ont depuis rajouté d'autres contraintes aux ICPE :

- *Circulaire du 19 août 2004* : Nouvelles références de rejets pour les élevages porcins
- *Arrêté du 7 février 2005* : Règles techniques auxquelles doivent satisfaire notamment les élevages porcins soumis à Autorisation au titre du Livre V du Code de l'Environnement avec entre autre :
  - Des distances minimales d'implantation des élevages :
    - 100 m des habitations ;
    - 35 m des puits, forages et sources ;
    - 200 m des lieux de baignade ;
    - 500 m en amont des sites d'aquaculture.
  - Des restrictions d'épandage :
    - Enfouissement obligatoire sur terre nue (non imposé dans le cas d'un compost) ;
    - Des distances minimales d'épandage :
      - 50 m des points de collectes d'eau destinée à l'alimentation collective ou privée ;
      - 35 m des berges (réduit à 10 m dans le cas de la présence d'une bande enherbée ou boisée de 10 m) ;
      - 200 m des lieux de baignade ;
      - 500 m en amont des sites d'aquaculture ;
      - par rapport aux habitations :
        - 10 m pour un compost ;
        - 15 m pour un lisier avec enfouissement immédiat sur terres nues ;
        - 50 m pour un fumier avec un délai maximal de 24 h pour l'enfouissement sur terres nues.

*Mesures non réglementaires dites « d'usage à bon escient » des effluents d'élevage :*

Elles sont regroupées dans le Code de Bonnes Pratiques Agricoles (arrêté du 22 novembre 1993). Des périodes d'épandage déconseillées y figurent. Il y est rappelé que l'épandage ne doit se faire qu'aux périodes de besoin des plantes (cf. Tableau 6).

**Tableau 6** : Dates d'épandage inappropriées pour les fertilisants de type II selon le Code de Bonnes Pratiques Agricoles obligatoires depuis 1999 (**Levasseur, 1998**)

Type de culture	Période d'épandage inappropriée
Sols non cultivés	Toute l'année
Grandes cultures d'automne (ex : blé, orge)	Du 1 <sup>er</sup> novembre au 15 janvier
Grandes cultures de printemps (ex : maïs)	Du 1 <sup>er</sup> Juillet au 15 janvier
Prairies de plus de 6 mois non pâturées	15 novembre au 15 janvier
Cultures spéciales	A préciser localement

*Remarque : les fertilisants de type II sont des fertilisants présentant un rapport C/N inférieur ou égal à 8 comme le lisier de porc.*

## 2. Evaluation des risques sanitaires microbiologiques des rejets porcins

Le processus d'évaluation des risques sanitaires microbiologiques des effluents de porcherie comprend trois étapes clés à savoir

- l'identification (et la caractérisation) des dangers sanitaires ;
- l'estimation de l'exposition aux dangers ;
- l'estimation du risque.

Cependant, préalablement à l'identification des dangers sanitaires microbiologiques, il convient d'établir les caractéristiques microbiennes des effluents de porcherie.

### 2.1. Caractéristiques bactériennes des rejets porcins

#### 2.1.1. La flore fécale porcine

*La flore digestive :*

Environ  $10^{14}$  bactéries sont présentes dans le tube digestif des animaux, avec une plus grande concentration dans les segments distaux du tube digestif (iléon, caecum et colon) et de l'estomac. (Ducluzeau, 1989)

La biologie moléculaire permet d'identifier et de dénombrer toutes les bactéries des effluents, y compris des populations bactériennes que la méthode culturale ne permet pas d'isoler ou de cultiver.

Leser et al (2002), en utilisant la biologie moléculaire, ont analysé la flore du tube digestif de 24 porcs. A partir de 4270 séquences d'ARNr 16S provenant de prélèvements digestifs (iléon, caecum et colon) ils ont identifié 375 phylotypes (sur la base de 97 % de similarité de séquence). 81 % d'entre eux appartiennent aux bactéries Gram positives à bas GC %. (cf. Tableau 7)

*La flore fécale :*

L'espèce animale est le premier facteur de variation de la flore microbienne du tube digestif du fait des différences de régime alimentaire et de physiologie digestive. Les dénombrements bactériens varieront donc suivant l'espèce animale (cf. Tableau 8). (Ricker, 2001)

Le dénombrement par comptage direct au microscope de la flore totale fécale porcine serait de l'ordre de  $5 \times 10^{10}$  bactéries par gramme de fèces. (Salanitro, 1977)



**Tableau 7 : Principaux groupes phylogénétiques bactériens auxquels **Leser et al (2002)** ont affilié les différents phylotypes.**

Groupe Phylogénétique <sup>a</sup>	Numéro de RDP (registration)	Nombre de phylotypes détectés	Similarité moyenne (%) <sup>b</sup>
<b>BACTERIA</b>			
<b>Groupes des bactéries Gram positives à bas GC %</b>			
<i>Eubacterium</i> et apparentées	2.30.4	125	93,0
<i>Clostridium</i> et apparentées	2.30.9	109	92,2
Subdivision <i>Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus</i>	2.30.7	46	96,7
<i>Mycoplasma</i> et apparentées	2.30.8	8	78,6
<i>Sporomusa</i> et apparentées	2.30.3	15	94,7
Groupe <i>Clostridium purinolyticum</i>	2.30.5	1	94,4
<b>Groupe <i>Flexibacter-Cytophaga-Bacteroides</i></b>	2.15	42	87,5
<b>Proteobacteria</b>	2.28	20	94,8
<b>High-G+C bacteria</b>	2.30.1	4	93,5
<b>Spirochetes et apparentées</b>	2.27	2	86,4
<b><i>Planctomyces</i> et apparentées</b>	2.20	1	86,0
<b>Assemblage <i>Flexistipes sinusarabici</i></b>	2.14	1	85,9
<b>Groupe <i>Anaerobaculum thermoterrenum</i></b>	2.11	1	84,3

a : Groupe phylogénétique selon le RDBP-II (Ribosomal Data Base Project II)

b : Moyenne des similarités des phylotypes par rapport aux séquences les plus proches trouvées dans la base de donnée RDB

Remarque : un groupe phylogénétique regroupe les organismes présentant des relations de forte « ressemblance » génétique

**Tableau 8 : Composition bactérienne par gramme de fèces pour différentes espèces. (Ricker, 2001)**

Animal	Coliformes fécaux	Streptococci	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Bacteroides</i>	Lactobacilli
Porc	3,3E+06	8,4E+07	4,0E+03	5,0E+05	2,5E+08
Homme	1,3E+07	3,0E+06	1,6E+03	5,0E+09	6,3E+08
Bovin	2,3E+05	1,3E+06	2,0E+02	<1	2,5E+02
Ovin	1,6E+07	3,8E+07	2,0E+05	<1	7,9E+04
Cheval	1,3E+04	6,3E+06	<1	<1	1,0E+07
Canard	3,3E+07	5,4E+07	-	-	-
Poulet	1,3E+06	3,4E+06	2,5E+02	<1	3,2E+08
Dinde	2,9E+05	2,8E+06	-	-	-
Chat	7,9E+06	2,7E+07	2,5E+07	8,0E+08	6,3E+08
Chien	2,3E+07	9,8E+08	2,5E+08	5,0E+08	4,0E+04
Souris	3,3E+05	7,7E+06	<1	8,0E+08	1,3E+09
Lapin	2,0E+01	4,7E+04	<1	4,0E+08	<1

## 2.1.2. Caractéristiques physico-chimiques et microbiennes des rejets porcins

La communauté microbienne fécale porcine adaptée à l'environnement intestinal du porc, va évoluer et s'adapter au regard des nouvelles conditions du milieu extérieur : fumier ou lisier.

### *Les lisiers :*

La composition microbienne initiale du lisier est, en principe, semblable quel que soit l'élevage puisqu'elle est la résultante d'un mélange d'urine et de fèces provenant d'individus de la même espèce voire de la « même génétique ». Cependant, des facteurs de variation peuvent intervenir et modifier la flore fécale porcine. On citera entre autre le régime alimentaire et l'utilisation des traitements antibiotiques.

Le passage du tube digestif au lisier s'accompagne d'un abaissement de la température pouvant varier suivant les régions et les saisons.

Le potentiel redox ainsi que le pH du lisier sont relativement stables suivant les élevages :

- pH entre 6.9 et 7.7 ;
- potentiel rédox autour de -350 mV.

Les dénombrements bactériens sur des prélèvements de lisier peuvent varier d'un facteur 100 (de  $1 \times 10^7$  à  $1 \times 10^9$  bactéries/mL). En effet, les bactéries aérobies et anaérobies diminuent avec le temps de stockage du lisier. Cependant, certains micro-organismes, du fait de leur état viable mais non cultivable, échappent à la méthode culturale et sont ainsi exclus des dénombrements. En comparant le comptage direct au microscope et l'isolement par culture, **Spiegelberg (1978)** estime que **seulement 20 % des micro-organismes seraient cultivables !**

Parmi les micro-organismes présents dans le lisier, on retrouve les groupes phylogénétiques bactériens des fèces porcins (cf. 2.1.1.) avec cependant une prédominance numéraire des coques (entérocoques) et des clostridies ainsi qu'une plus faible proportion de *Lactobacillus*. **(Cotta et al., 2003)**

### *Les fumiers :*

Une des caractéristiques majeure des fumiers est leur hétérogénéité, liée au mélange de phases du milieu : solide (particules de pailles ou de sciure), liquide et gazeuse (variable suivant l'aération de la litière).

De la quantité du substrat carboné apporté (paille, sciure) et de l'activité microbienne qui y règnera va dépendre l'évolution des caractéristiques physico-chimiques du milieu, à savoir la consommation d'oxygène, les valeurs fertilisantes, la température, la teneur en eau du fumier...

Du fait de l'accumulation de l'ammoniac, le pH du fumier s'élève aux environs de 8.

A l'inverse du lisier, la structure hétérogène du fumier favorise le maintien de conditions aérobies favorisant une flore de décomposition aérobie ou anaérobie facultative.

De plus, la montée en température du tas de fumier sélectionne des bactéries mésophiles voire thermophiles.

De ce fait, les études portant sur la microbiologie du compostage restreignent leurs recherches aux bactéries hétérotrophes mésophiles ou thermophiles ainsi qu'aux indicateurs fécaux (streptocoques, coliformes et salmonelles).

## 2.2. Identification des principaux dangers sanitaires

Les rejets porcins sont stockés soit dans des fosses ou des lagunes pour les lisiers soit en tas à même le sol pour les fumiers. Cette étape de stockage ne traite pas ces rejets au point de les stériliser mais il réduit leur charge microbienne (Saini et al., 2003). Cependant, cette réduction est variable et dépend de nombreux paramètres. Ainsi, **un large nombre de parasites, de virus et de bactéries** parmi eux des germes potentiellement pathogènes pour l'homme et les animaux, **sont disséminés au sol lors de l'épandage** des effluents d'élevage (Pell, 1997).

Cependant, la transmission de ces germes pathogènes de l'animal à l'homme (ou de l'animal à l'animal) nécessite trois conditions :

- l'excrétion de germes pathogènes par l'animal ;
- la survie de germes pathogènes dans l'environnement jusqu'à la contamination de l'homme (ou de l'animal) ;
- la présence d'une quantité de germes pathogènes suffisante pour contaminer l'homme (ou de l'animal) ;
- la réalisation d'une voie d'exposition.

Parmi les nombreux parasites, virus et bactéries pouvant être retrouvés dans les fèces d'animaux domestiques et sauvages, seul un petit nombre sont capables d'infecter les hommes. Ce sont ces pathogènes qui constituent des dangers sanitaires pour la Santé Publique. L'homme s'expose à ces dangers sanitaires par le contact direct avec les animaux ou bien par la consommation d'eau ou d'aliments contaminés par des fèces animales.

La prise en compte de ces agents pathogènes doit se faire en fonction de l'espèce animale produisant les déjections et des critères de spécificité et de prévalence du pathogène considéré.

Ainsi par exemple, les entérovirus d'origine porcine pour bon nombre d'entre eux peuvent infecter les humains. Un autre exemple est celui des *Campylobacter* spp. (notamment *C. jejuni*) et *Yersinia enterocolitica* qui posent des risques importants pour la santé publique et qui se rencontrent plus fréquemment en élevages porcins et aviaires qu'en élevage bovin. (Pell, 1997).

D'Allaire et al. (1999), à partir d'une liste de 125 agents infectieux présents mondialement chez le porc, retiennent 8 agents pathogènes potentiellement transmissibles à l'homme :

→ 6 groupes de bactéries :

- *Escherichia coli*
  - *Salmonella* spp.
  - *Campylobacter coli* (et *jejuni*)
- } **Dangers bactériens majeurs**  
dans les déjections porcines

- *Yersinia enterocolitica*
  - *Listeria monocytogenes*
  - *Leptospira* spp.
- } **Dangers bactériens mineurs**  
dans les déjections porcines

→ 2 protozoaires :

- *Cryptosporidium parvum*
- *Giardia intestinalis*

Cette thèse s'axant sur la « sécurité bactériologique », les parasites et les virus seront abordés ci-dessous succinctement.

Le développement de la problématique sur l'aspect Santé Publique sera appuyé avec une insistance particulière ; l'aspect Santé Animale étant abordé en second plan.

## 2.2.1. Les dangers microbiens

### 2.2.1.1. Les dangers parasitaires

Les parasites sont incapables de se multiplier à l'extérieur de leur hôte. *Cryptosporidium* spp. (essentiellement *C. parvum*) et *Giardia* spp. Constituent des dangers sanitaires parasitaires majeurs dans les effluents d'élevage. (Hutchison et al., 2005)

*Giardia* spp. et *Cryptosporidium parvum* sont des protozoaires occasionnant une diarrhée sévère à la fois chez l'homme et les animaux mais rétrocedant de par elle-même la plupart du temps. (Pell, 1997)

*Giardia* spp. et *Cryptosporidium* présentent des cycles de vie complexes avec plusieurs changements de formes. Suite à l'ingestion par un animal de kystes (*Giardia* spp.) ou d'oocystes (*Cryptosporidium parvum*), ces structures libèrent une forme infestante dans le tube digestif de l'espèce hôte puis plusieurs changements de formes se succèdent avant que de nouveau des kystes ou des oocystes soient excrétés dans l'environnement. (Pell, 1997)

Ce sont ces dernières structures qui devront résister à l'environnement extérieur. Elles y sont particulièrement adaptées puisque leur capacité de survie peut aller au-delà d'un an ! (Pell, 1997)

**Les 2 parasites présentent une dose infestante faible.** Pour *Giardia* spp. 10 à 100 kystes suffisent à contaminer un homme. (Comité de Santé Environnemental du Québec, 2000)

Lors d'une étude chez des individus sains et volontaires DuPont et al. (1995) constatent que 30 et 300 oocystes de *Cryptosporidium parvum* suffisent à contaminer respectivement 20% et 88% des sujets.

Or les animaux atteints de cryptosporidiose peuvent excréter jusqu'à  $1 \times 10^9$  oocystes par jour et ce pendant un à 12 jours ! (Pell, 1997)

Le traitement de la cryptosporidiose pose davantage de difficultés que celui de la giardiase du fait du plus faible nombre de substances actives efficaces. La paromomycine est l'un des rares principes actifs pouvant agir contre la cryptosporidiose. (Pell, 1997)

De surcroît, des deux protozoaires, *Cryptosporidium parvum* est le plus difficile à maîtriser car non seulement il est susceptible d'infester de nombreuses espèces de mammifères mais en sus il n'est pas affecté par la chloration aux doses utilisées pour le traitement de l'eau potable ! (Pell, 1997)

Tout ceci appuie la nécessité d'un traitement sanitaire des effluents d'élevage. Le stockage de ces effluents sans apport continu ne suffit pas à réduire rapidement le nombre d'oocystes de *Cryptosporidium parvum* puisque une longue période de stockage est requise pour avoir une chute significative. Cependant, si les effluents sont « aérés » durant le stockage, on peut observer une accélération du déclin du nombre d'oocystes de *Cryptosporidium parvum*.

Or toutes les fermes ne pratiquent pas l'aération des effluents lors de leur stockage (cf. 3.1.). En plus, la plupart des élevages ne dispose pas d'une capacité de stockage suffisante pour stocker les effluents plus que quelques mois et les bassins et lagunes de stockage fonctionnent souvent en apport régulier et continu en effluent frais...

### 2.2.1.2. Les virus

Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires et, comme pour les parasites, les virus sont incapables de se multiplier à l'extérieur de leur hôte. Le milieu extérieur ne leur permettra donc pas d'accroître leur population ; il leur servira simplement de véhicule.

De leur capacité de résistance aux conditions environnementales dépendra la réduction de leur population.

Les virus sont particulièrement sensibles à la lumière du soleil et au dessèchement.

Dans la majorité des zoonoses virales, un contact direct est nécessaire. **(Comité de Santé Environnemental du Québec, 2000 ; Cliver, 2004)**

Il est important de signaler que du fait de leur spectre d'hôte relativement étroit, peu d'entre eux ont la capacité d'infecter à la fois les porcs et les hommes, et ce, en dépit des ressemblances entre les tubes digestifs humain et porcin. **(Pell, 1997 ; Cliver, 2004)**

Ci-dessous sont rappelés deux virus qui pourraient éventuellement, selon l'OMS, poser problème lors de contamination de l'eau de boisson par les fèces porcines **(Cliver, 2004)** :

→ *Virus de la « maladie vésiculeuse du porc »* :

Famille : *Picornaviridae*

Genre : *Enterovirus*

Remarque : Proche du virus *Coxsackie B5*, virus spécifique de l'homme

→ *Virus porcin, proche du virus humain de l'hépatite E* :

Famille : Proche des *Caliciviridae* en attente de classification

Genre : *hepatitis E like virus*

Remarque : Les porcs infectés ne semblent pas présenter des symptômes. Le virus ne se transmettant pas par voie orale chez le porc, il est peu probable que cela soit différent pour l'homme. Il est donc peu probable que le virus puisse contaminer l'homme par voie aquifère.

En ce qui concerne le virus de l'influenza, le porc est une espèce reconnue comme pouvant servir d'intermédiaire dans l'adaptation d'une souche aviaire à l'homme puisque des souches recombinantes des virus de l'influenza aviaire et humain ont été détectées chez le porc. Cependant, il n'y a pas d'étude qui, à ce jour, ait démontrée une possible transmission à l'homme par l'eau. **(Cliver, 2004)**



### 2.2.1.3. Les dangers bactériens

#### 2.2.1.3.1. Dangers bactériologiques majeurs

##### 2.2.1.3.1.1. *Escherichia coli* entérohémorragiques

*Présentation :*

*Escherichia coli* est une **bactérie habituelle de l'intestin des humains et des animaux à sang chaud**. Son dénombrement dans un échantillon d'eau est couramment utilisé comme indicateur de contamination fécale.

La majorité des souches sont non pathogènes et dans de nombreux cas bénéfiques mais certaines peuvent causer des symptômes sévères.

Le typage des souches d'*Escherichia coli* est réalisé par sérologie (sérotypie) depuis 1947 et s'appuie sur les propriétés antigéniques du lipopolysaccharide (O) et flagellaire (H). La combinaison des 2 antigènes définit le « sérotype » d'*Escherichia coli*, ce dernier n'étant pas toujours en rapport avec la pathogénicité.

La pathogénicité de certaines souches d'*Escherichia coli* peut être classée en « pathovar » en se reportant à un syndrome infectieux spécifique.

Le pathovar posant problème dans le cadre de la Santé Publique et des Toxi-Infections Alimentaires d'origine Collective est celui des EHEC ou *Escherichia coli* entérohémorragiques et ce pour deux raisons principales :

- la gravité potentielle des symptômes développés chez l'homme (cf. ci-dessous) ;
- l'existence d'un réservoir animal.

La virulence de ces souches est liée à la présence d'un plasmide codant pour une « entérohémolysine » communément appelée « vérotoxine » ou « Shiga-toxine ». On parle alors de STEC (Shiga-Toxin producing *Escherichia coli*).

*Escherichia coli* O157:H7 est l'un des principaux sérotypes des STEC. (Patriquin, 2000 ; Tauxe, 1997)

L'importance des infections à EHEC tient autant du fait de la symptomatique qui lui est associée que du **faible nombre de bactéries qui suffisent à contaminer un homme**. La dose infectieuse demeure cependant variable selon les études réalisées (quelques cellules à plusieurs centaines de cellules). (Delignette-Muller, 2003)

*Symptômes chez l'animal :*

Il est à noter que ce pathogène peut être retrouvé sur des fèces de bovins sains, ce qui rend plus difficile l'anticipation des contaminations de l'environnement. D'autre part, O157:H7 peut être rencontré chez le porc, les moutons et des animaux sauvages comme le cerf. (Tauxe, 1997)

Chez les animaux, le portage de STEC est asymptomatique. Seul le porc peut développer une pathologie liée aux STEC. (« maladie de l'œdème du porc »). (Bouvet, 2003)



### *Symptômes chez l'homme :*

La clinique rencontrée chez l'homme résulte de l'action de la toxine « vero » ou « Shiga » qui endommagent les muqueuses digestives et les reins.

La diarrhée prodromique apparaissant initialement évolue :

- dans 90 % des cas vers une Colite Hémorragique (diarrhée profuse et sanguinolente, douleurs abdominales et peu ou pas de fièvre. Les symptômes rétrocedent en 5 à 10 jours) ;
- dans 10 % des cas vers une complication d'un SHU (Syndrome Hémolytique et Urémique) (enfants de moins de 15 ans et personnes âgées) pouvant aller jusqu'à la mort ;
- plus rarement peut se surajouter un purpura thrombocythopénique (atteinte du Système Nerveux Central) chez l'adulte ;
- Parfois on ne rencontre pas de sang dans les selles voire dans certains cas, l'infection passe inaperçue.

Le traitement est le plus souvent symptomatique. L'utilisation des antibiotiques est controversée, parfois même jugée dangereuse par la libération des « shiga-toxines » engendrée par la destruction des STEC, ce qui accélérerait et aggraverait la clinique. **(Bouvet, 2003)**

### *Prévalence de la maladie chez l'homme :*

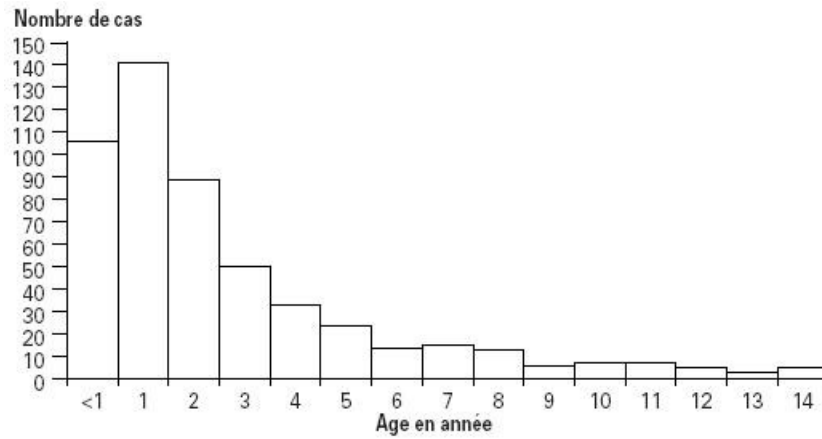
Au Canada, O157 arrive en seconde position parmi les bactéries pathogènes les plus fréquemment rencontrées dans les prélèvements de selles analysés en laboratoire (derrière *Campylobacter*) et remonte à la première place durant les mois chauds. **(Patriquin, 2000)**

En France, un système de surveillance pour les *Escherichia coli* pathogènes (particulièrement les EHEC responsables de SHU) a été mis en place par le Centre National de Référence (CNR) des *Escherichia coli* et *Shigella*. Ce CNR participe au réseau national de surveillance du SHU chez les enfants de moins de 15 ans en France (avec l'hôpital Robert Debré et l'Institut de Veille Sanitaire et le Réseau des Pédiatres Néphrologues) organisé en 1996.

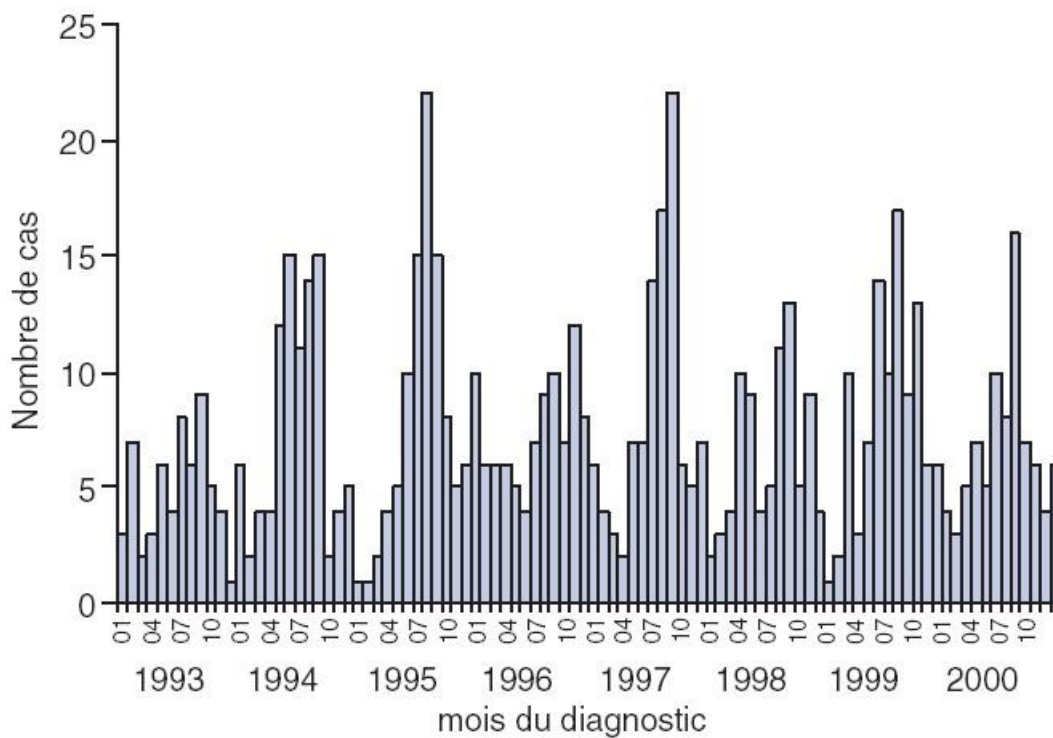
L'épidémiologie mise en place a permis de confirmer la survenue des SHU essentiellement chez les jeunes enfants (cf. Figure 2) en fin de période estivale (cf. Figure 3).

Les SHU surviennent majoritairement de manière sporadique, associés le plus souvent à une diarrhée prodromique (sanglante dans plus de la moitié des cas) (cf. Tableau 9). La sérologie et/ou la bactériologie des selles n'a permis de confirmer l'infection à STEC que pour 50 à 60 % des SHU. **(Espié, 2004)**

**Figure 2** : Distribution du nombre de cas de SHU chez les enfants de moins de 15 ans, par âge en France de 1996 à 2001 (Haeghebaert, 2003)



**Figure 3** : Distribution mensuelle des cas de SHU chez l'enfant de moins de 15 ans, France métropolitaine, 1993-2000. (Haeghebaert, 2002)



**Tableau 9 : Evolution des Syndromes Hémolytiques Urémiques chez les enfants de moins de 15 ans en France de 1996 à 2003 (Haeghebaert, 2000/2001/2002/2003 ; Espié, 2003 ; Vaillant 1999)**

	SHU chez les moins de 15 ans (Décès)	% Diarrhée chez SHU, % Diarrhée dans l'entourage	Confirmation infection à STEC			Cas de SHU groupés : (Origine de l'infection)
			Sérologie Cas testés (positifs ; dont O157)	Bactériologie Cas testés (positifs ; dont O157)	Testés (séro et/ou bactério) (Confirmés ; %)	
1996	90 (1)		84 (56 ; 52)			
1997	100	91 ; 29	79 (40 ; 38)			0
1998	79	91 ; 56	60 (29 ; 27)			3 foyers de 2 cas chacun : 1 foyer (retour d'un séjour au Portugal) 2 foyers : un à Dunkerque, l'autre à Lille (origine inconnue)
1999	98 (1)	? ; 27	87 (48 ; 41)	64 (12 ; 6)		2 foyers de 2 cas chacun : 2 foyers dans le Finistère (enfants d'exploitation agricoles, suspicion élevage bovin et porcin)
2000	81 (1)	95 ; 37	72 (32 ; 32)	52 (11 ; 9)		0
2001	75 (1)	97 ; 47	68 (31 ; 27)	43 (12 ; 7)	73 (37 ; 51)	0
2002	70 (3)	97 ; ?	65 (35 ; 29)	40 (10 ; 3)	68 (41 ; 60)	3 foyers de 2 cas chacun : 2 foyers (Inconnu) 1 foyer dans le Doubs (Suspicion élevage Bovin)
2003	90	88 ; ?	81 (45 ; 38)	69 (22 ; 14)	87 (48 ; 55)	2 foyers de 3 cas chacun : dans le Finistère (Inconnu), Val-de-Marne (Inconnu)

*Remarque : le terme de foyer s'applique lors de l'existence d'au moins deux cas de SHU simultanés. Il ne prend pas en compte l'existence de cas de diarrhée dans l'entourage...*

## Voies de contamination :

Les voies de contamination sont :

- l'ingestion :
  - d'aliments contaminés (viande de bœuf en particulier)  
*La contamination des aliments est d'ordinaire associée à la contamination par contact avec les déjections animales à une étape de la transformation des produits.*  
**La plupart des infections à *Escherichia coli* O157:H7 sont couramment associées à la consommation de viande de bœuf insuffisamment cuite contaminée en abattoir par des éléments stercoraires. (Kudva et al., 1998)**  
*Parmi les possibilités de contact entre ces déjections animales et les aliments, l'épandage sur cultures maraîchères joue un rôle certainement sous-estimé (cf. 2.3.1.)*
  - d'eau de boisson contaminée (cf. 2.3.2.)
- le contact direct (animaux porteurs, personne malade, eau de baignade contaminée) ; on parle parfois de « maladie des mains sales »  
*Une fois introduite au sein d'une famille ou d'un groupe de personnes, l'infection peut se propager de personne à personne par défaut d'hygiène. Il est à noter que chez les jeunes enfants atteints, l'excrétion de *Escherichia coli* O157:H7 dans les fèces peut se faire jusqu'à deux semaines après l'arrêt des symptômes.*

#### 2.2.1.3.1.2. *Salmonella* spp.

##### *Présentation :*

Les salmonelles sont des bactéries **largement répandues dans les tubes digestifs des mammifères, des oiseaux et des reptiles.**

On dénombre plus de 2500 sérotypes de salmonelles presque tous regroupés au sein de l'espèce *Salmonella enterica*.

Plus de 2000 sérotypes de salmonelles sont considérés comme pathogènes pour l'homme parmi lesquelles on distingue les sérotypes Typhi et Paratyphi à réservoir strictement humain (responsables de la fièvre typhoïde et paratyphoïde) et les autres sérotypes responsables des salmonelloses dites « mineures ». **(Vaillant, 2004)** Cependant, les salmonelles sont détruites par la cuisson.

##### *Symptômes chez l'animal :*

La maladie peut s'observer chez tous les animaux et est de répartition mondiale.

Elle est endémique dans certains élevages et des infections subcliniques sont observées chez les adultes. Un stress tel que le transport, le rassemblement d'animaux et le réallotement peut accélérer l'apparition des signes cliniques et l'excrétion des bactéries.

La salmonellose se caractérise par une septicémie, une entérite aiguë et/ou chronique. **(Olson, 2001)**

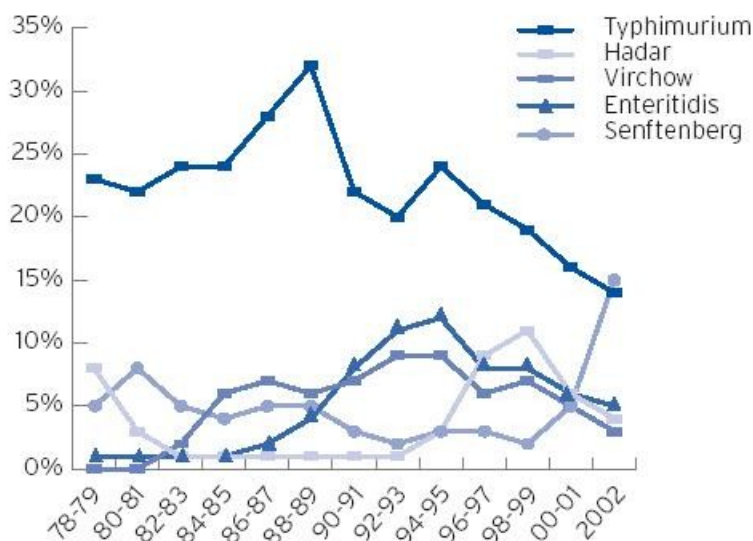
Les porcs d'élevages ne présentant pas de signes cliniques peuvent excréter des pathogènes comme les Salmonelles. **(Chinivasagam et al., 2003)** Chez le porc, les sérotypes les plus fréquemment rencontrés sont Typhimurium, Brandeburg et Derby.

**Tableau 10 : Sérotypes isolés en 2002 à partir du secteur Santé et production animales. (Brisabois, 2003)**

Sérotypes	Total	Bovin	Porc	Volaille	Autres espèces
Senftenberg	3042	1	2	3039	0
Typhimurium	2170	358	72	1705	35
Indiana	1317	23	0	1293	1
Kottbus	1236	13	1	1222	0
Enteritidis	926	26	1	873	26
Saintpaul	898	0	0	895	3
Heidelberg	814	3	0	810	1
Hadar	760	1	0	757	2
Montevideo	676	107	1	568	0
Infantis	525	24	8	491	2
Virchow	379	1	1	376	1
Cerro	267	0	0	265	2
Mbandaka	239	12	0	226	1
Newport	233	3	0	229	1
Agona	180	6	2	172	0
Autres sérotypes	2098	297	92	172	1537
<b>TOTAL</b>	<b>15760</b>	<b>875</b>	<b>180</b>	<b>13093</b>	<b>1612</b>

Remarque : Pour le porc, les autre sérotypes majeurs sont Brandenburg et Derby

**Figure 4 : Evolution des principaux sérotypes des salmonelles d'origine non humaine depuis 1978. (Brisabois, 2003)**



### *Symptômes chez l'homme :*

Son incidence chez l'homme a augmenté ces dernières années. Chez l'homme, les symptômes sont la diarrhée, la fièvre, des douleurs abdominales et surviennent 12 à 72 heures après la contamination. La maladie dure au moins une semaine et les symptômes rétrocedent la plupart du temps sans traitement. Chez certains individus, la diarrhée est si sévère que l'hospitalisation est souvent requise. L'infection peut gagner l'appareil circulatoire, causer une septicémie voire la mort. Les personnes âgées, les enfants et d'une manière générale les personnes présentant un système immunitaire imparfait sont d'avantage susceptibles de développer cette forme sévère de la maladie.

### *Prévalence de la salmonellose chez l'homme :*

On évalue à 40 000 cas de salmonellose dont 1000 décès au Canada et aux Etats-Unis chaque année. Pour évaluer l'importance de cette maladie, il faut prendre également en considération le **nombre croissant de souches résistantes à un ou plusieurs agents antimicrobiens.** (cf. 2.2.2.2.) (**Tauxe, 1997**)

En France, la surveillance des salmonelloses repose sur plusieurs systèmes complémentaires :

- Le Centre National de Référence des *Salmonella* et *Shigella* (CNRSS), Institut Pasteur, Paris. (sérotypage des souches de *Salmonella*, isolées par les laboratoires hospitaliers et privés d'analyses et de biologie médicale (LABM)) ;
- Déclaration Obligatoire (DO) des Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIAC). (Déclarations à la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) ou aux services vétérinaires départementaux (DSV)) ;
- La surveillance vétérinaire et les laboratoires d'analyses (souches isolées chez les animaux, dans des aliments et dans l'environnement) dont le Laboratoire Central d'Hygiène Alimentaire (Agence Française de Sécurité des Aliments (AFSSA), Maisons-Alfort).

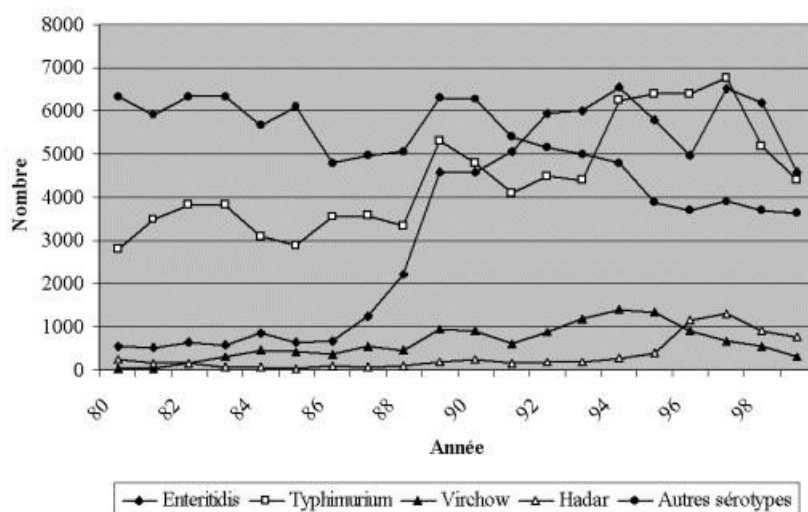
Ci-dessous sont repris les données établies par le CNRSS sur l'évolution des sérotypes isolés chez l'homme en France sur la période [1997-1999] (cf. Tableau 11) et sur la période [1980-1999] (cf. Figure 5)

**Chaque année en France, aux environs de 30 milliers de cas de salmonellose seraient confirmés.** (cf. Tableau 12)

**Tableau 11** : Distribution des sérotypes de *Salmonella* non-Typhi les plus fréquemment isolés chez l'homme en France de 1997 à 1999. CNRSS. (Vaillant, 2004)

	Nombre annuel d'isolements reçus ou signalés		
	1997	1998	1999
Tous sérotypes *	18 854	16 004	13 453
Enteritidis	6 514	6 183	4 579
Typhimurium	6 755	5 177	4 386
Hadar	1 318	899	880
Virchow	668	557	376
Heidelberg	373	377	298
Infantis	277	322	283
Brandenburg	247	206	161
Newport	220	179	186
Derby	194	152	163
Indiana	158	113	72
Bovismorbificans	80	126	109
Bredeney	156	80	79
Saintpaul	81	94	86
Panama	64	92	71
Agona	93	64	66
Dublin	50	54	103
Montevideo	99	52	56
Anatum	73	56	78
Coeln	51	80	52
Goldcoast	55	60	49

**Figure 5** : Evolution des principaux sérotypes de *Salmonella* isolés chez l'Homme (1980-1999). (Bouvet, 2001)





**Tableau 12 : Estimations du nombre annuel moyen de cas confirmés de salmonellose en France. (Vaillant, 2004)**

Sources de données	CNRSS	Réseau Sentinelles
Données de base	16 104 isollements annuels	3 830 000 consultations par an pour diarrhées aiguës
Autres données utilisées	Exhaustivité notification des TIAC à <i>Salmonella</i> = 50 %	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ 3,8 % de copro. Prescrites</li> <li>♦ 14,5 % positives pour <i>Salmonella</i></li> </ul>
Mode de calcul	Isollements x Exhaustivité = $(16\ 104 \times 100) / 50$	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ <math>3\ 830\ 000 \times 3,8\ % = 145\ 540</math></li> <li>♦ <math>145\ 540 \times 14,5\ %</math></li> </ul>
Cas confirmés	32 208	21 103

(en italique : données observées)

*Remarque : Le réseau Sentinelles est un système de surveillance nationale qui permet, depuis novembre 1984, le recueil de données épidémiologiques issues de l'activité des médecins généralistes libéraux. Cette surveillance hebdomadaire concerne les pathologies transmissibles fréquentes en médecine de ville : grippe clinique, diarrhée aiguë, rougeole, oreillons, varicelle, urétrite masculine, hépatites A, B, C, l'asthme, les tentatives de suicide et le recours à l'hospitalisation.*

#### Voies de contamination :

Les salmonelles se transmettent à l'homme par :

- l'ingestion : -- d'aliments consommés crus ou peu cuits et contaminés ;  
*Les principaux aliments en cause sont les viandes, les volailles, les produits laitiers, les œufs, les ovoproduits, les poissons et les fruits de la mer. En ce qui concerne la viande, sa contamination s'effectue là où la probabilité de contact fèces/viande est la plus grande : en abattoir.*  
*Du fumier contaminé utilisé en tant que fertilisant pour des aliments qui seront mangés crus (légumes, champignons...) pourrait être une voie de contamination humaine*
  
- d'eau contaminée ;  
*Une contamination de celle-ci par des fèces bovins directement ou par des lixiviations de lisiers ou de fumiers pourrait contaminer l'homme directement (eau de consommation) ou indirectement (eau de lavage des légumes...).*
  
- le contact direct (animaux infectés, personne malade).

### 2.2.1.3.1.3. *Campylobacter* spp.

#### *Présentation :*

La campylobactériose est causée par une bactérie spiralée. Les *Campylobacter* spp. se rencontrent couramment dans les fèces d'animaux à sang chaud. Leur croissance est optimale à 42°C et stoppée à 32°C.

Deux espèces sont responsables de la majeure partie des TIAC à campylobacters :

- *Campylobacter jejuni* est l'espèce prédominante et la volaille est son principal réservoir naturel ;
- ***Campylobacter coli***, souvent rencontré **chez le porc**. Cette bactérie est capable, lorsque les conditions du milieu ne sont plus optimales (l'eau par exemple), de se convertir dans un état viable mais non cultivable posant des problèmes d'interprétation des analyses par méthode culturale. (Tauxe, 1997).

#### *Symptômes chez les animaux :*

Elles colonisent le tube digestif des poulets et des dindes généralement sans être pathogènes. Elles ont été également isolées dans les fèces de porcs et de bovins présentant une diarrhée bien que l'on pense qu'elles ne soient pas pathogènes chez ces espèces.

#### *Symptômes chez l'homme :*

La durée d'incubation est de 2 à 5 jours.

La campylobactériose chez l'homme se manifeste par une **gastro-entérite** (diarrhée, douleurs abdominales, vomissements) accompagnée d'une **fièvre**. La plupart du temps les symptômes rétrocedent d'eux-mêmes en 2 à 5 jours et hormis sur les cas sévères, l'antibiothérapie n'est pas indispensable. **De nombreuses infections sont asymptomatiques.**

Rarement mortelle, elle se développe **plus sévèrement chez les enfants**, les personnes âgées et les personnes immunodéficientes. (Tauxe, 1997 ; Vaillant, 2004)

**100 cellules de *Campylobacter* suffisent à provoquer l'infection chez l'homme.**

#### *Prévalence de la campylobactériose chez l'homme :*

La campylobactériose (*Campylobacter jejuni*, *C. coli* et moins fréquemment *C. fetus*) (cf. Tableau 13) est considérée comme l'infection entérique la plus commune rencontrée lors de diarrhée chez l'homme en Amérique du Nord puisque l'on estime qu'elle y touche 2 millions de personnes chaque année. (Olson, 2001)

En France, **Mégraud (2004)** du Centre National de référence des *Helicobacter* et des *Campylobacter* (CNRHC) (Laboratoire de bactériologie du CHU Pellegrin, Bordeaux) a réalisé une enquête rétrospective sur les infections à *Campylobacter* en France de 1986 à 2000.

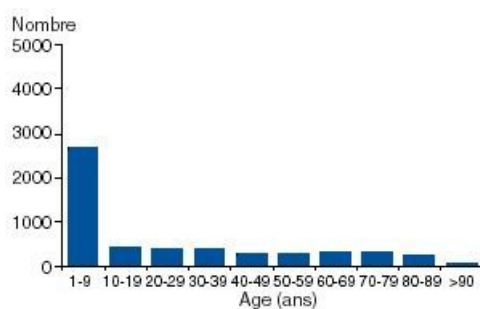
L'enquête épidémiologique a permis de confirmer la plus grande fréquence des cas de campylobactériose chez les jeunes enfants (cf. Figure 6) ainsi qu'une recrudescence annuelle des cas en période estivale (cf. Figure 7).

**Chaque année en France, plus de 5 milliers de cas de campylobactériose seraient confirmés.** (cf. Tableau 14)

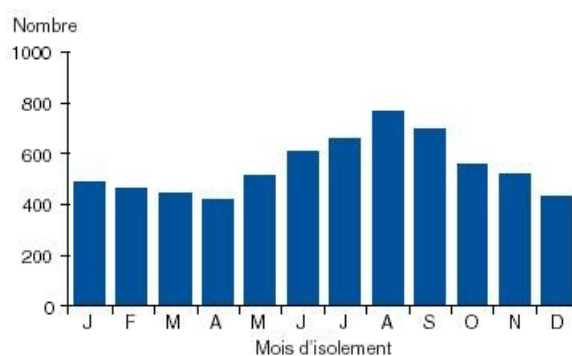
**Tableau 13 :** Répartition des espèces de *Campylobacters* isolées dans les selles au CNRHC, de 1986 à 2000 (Mégraud, 2001)

Espèce	Nombre de prélèvements
<i>C. jejuni</i>	3071
<i>C. coli</i>	808
<i>C. fetus</i>	89
<i>C. upsaliensis</i>	33
<i>C. lari</i>	20
<i>C. sputorum</i>	3
<i>C. hyointestinalis</i>	4
<i>A. cryaerophila</i>	1
<i>H. cinaedi</i>	2
<i>Campylobacter sp.</i>	78
<i>C. jejuni ssp doyllii</i>	5

**Figure 6 :** Nombre de souches de *Campylobacter* répertoriées au CNR selon l'âge, de 1986 à 2000 (Mégraud, 2001)



**Figure 7 :** Distribution par mois d'isolement, des souches de *Campylobacter* répertoriées par le CNR de 1986 à 2000 (Mégraud, 2001)



**Tableau 14** : Estimation du nombre annuel moyen de cas confirmés de campylobactériose en France. (Vaillant, 2004)

Sources de données	Réseau Sentinelles
Données de base	3 830 000 consultations/an pour diarrhée aiguë
Autres données utilisées	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ 3,8 % de coprocultures</li> <li>♦ 4,1 % positives pour <i>Campylobacter</i></li> </ul>
Mode de calcul	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ <math>3\,830\,000 \times 3,8\% = 145\,540</math></li> <li>♦ <math>145\,540 \times 4,1\%</math></li> </ul>
Cas confirmés	5 967

(en italique : données observées)

*Voies de contamination :*

L'infection à *Campylobacter* spp. se transmet à l'homme par :

- l'ingestion : -- d'aliments contaminés ;

*La plupart des cas de campylobactériose chez l'homme sont associés à la manipulation des volailles ou à l'ingestion de viande de volaille crue ou insuffisamment cuite. Le porc et le bœuf semblent être moins fréquemment impliqués mais la contamination par ingestion de lait cru a été décrite (Tauxe, 1997).*

-- d'eau contaminée (cf. 2.3.2.) ;

- le contact direct (animaux infectés, personne malade).

## 2.2.1.3.2. Dangers bactériologiques mineurs

### 2.2.1.3.2.1. *Yersinia enterocolitica*

#### *Présentation :*

Cette bactérie se rencontre dans les fèces bovines ou porcines et est un pathogène du tube digestif.

*Yersinia enterocolitica* comprend 50 sérotypes et 5 biotypes, la plupart n'étant pas pathogènes pour l'homme.

Les souches pathogènes appartiennent aux sérotypes O3, O8, O9, O5,27 et aux biotypes 1, 2, 3 et 4. (Vaillant, 2004)

Parmi les animaux d'élevage, le porc serait le principal réservoir de *Yersinia enterocolitica*. (Comité de Santé Environnemental du Québec, 2000 ; Vaillant, 2004)

La **dose infectante** pour l'homme est **relativement élevée** ( $> 10^9$  organismes). (Comité de Santé Environnemental du Québec, 2000)

#### *Symptômes chez l'homme :*

Chez l'homme, elle affecte surtout les enfants qui présentent alors de la **fièvre** et une **diarrhée** (parfois sanguinolente) résultant d'une entérite aiguë.

#### *Prévalence de la yersiniose chez l'homme :*

Rare aux Etats-Unis, elle occasionne plus fréquemment des diarrhées en Europe du Nord et ailleurs. (Tauxe, 1997)

En France, le Centre National de Référence des Pestes et autres yersinioses (Institut Pasteur, Paris) reçoit des souches isolées par les LABM pour caractérisation par détermination de l'espèce, du biotype, du lysotype et du sérotype. (Vaillant, 2004)

Le tableau 15 établit une estimation du nombre de cas confirmés en laboratoire de yersiniose. **Chaque année en France, un millier de cas environ de yersiniose seraient confirmés.** (Vaillant, 2004)

**Tableau 15 : Estimations du nombre annuel moyen de cas confirmés de yersiniose en France. (Vaillant, 2004)**

<b>Sources de données</b>	<b>Réseau Sentinelles</b>	<b>Cnam TS</b>
Données de base	3 830 000 consultations/an pour diarrhée aiguë	520 293 coprocultures remboursées / an
Autres données utilisées	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ 3,8 % de coprocultures</li> <li>♦ 0,5 % positives pour <i>Yersinia</i></li> </ul>	Epicop 0,4 % positives à <i>Yersinia enterocolitica</i>
Mode de calcul	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ <math>3\,830\,000 \times 3,8\% = 145\,540</math></li> <li>♦ <math>145\,540 \times 0,5\%</math></li> </ul>	$520\,293 \times 0,4\%$
Cas confirmés	728	2 121

(en italique : données observées)

Remarques :

*CnamTS : Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés du régime général pour les données sur les remboursements d'examens de laboratoires ou de médicaments.*

*Epicop : étude nationale réalisée par un réseau de Laboratoires d'Analyse Biologiques et Médicales (LABM) sur les bactéries isolées dans les coprocultures en médecine de ville*

*Voies de contamination :*

L'infection à *Yersinia enterocolitica* se transmet à l'homme par :

- l'ingestion : -- d'aliments contaminés.  
  - On associe le plus souvent la yersiniose chez l'homme avec l'ingestion de viande de porc insuffisamment cuite. (Tauxe, 1997)*
- d'eau contaminée (cf. 2.3.2.)
- le contact direct (animaux infectés, personne malade)

### 2.2.1.3.2.2. *Listeria monocytogenes*

*Présentation :*

**Bactérie ubiquiste**, *Listeria monocytogenes* présente une large distribution tant au niveau de l'environnement que des espèces hôtes potentielles.

Elle a été isolée chez 42 espèces de mammifères, 22 espèces d'oiseaux et diverses espèces (crustacés, poissons, insectes...).

Cette bactérie présente également des capacités surprenantes de survie dans des conditions physico-chimiques du milieu limites. C'est ainsi qu'elle est capable de croître entre [3 et 42°C] avec un pH entre [5.5 et 9.0]. Elle parvient aussi à se multiplier dans un milieu contenant jusqu'à 12% de sel. (Pell, 1997)

Chez les animaux, des porteurs sains peuvent exister, compliquant la prévention des contaminations.

*Symptômes chez l'homme :*

Chez l'homme elle affecte particulièrement certains groupes de personnes (nouveau-nés, femmes enceintes, personnes âgées, personnes immunodéprimées, diabétiques ou atteintes de cancer). Elle occasionne principalement des méningites voire des septicémies et des avortements chez la femme enceinte.

La létalité est conséquente (de 15 à 40 % selon les populations concernées).

*Prévalence de la listériose chez l'homme :*

En France, la surveillance de la listériose repose sur :

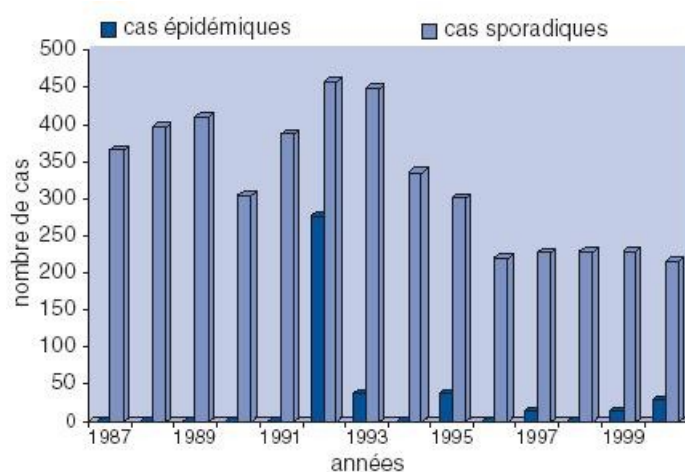
→ le CNR des *Listeria* (Institut Pasteur, Paris)

→ la Déclaration Obligatoire (DO) depuis 1998

Son incidence dans la population demeure très faible.

**Chaque année en France, quelques centaines de cas de listériose seraient confirmés.** (cf. Figure 8 & Tableau 16)

**Figure 8 :** Distribution des cas de listériose en France de 1987 à 1999. (Jacquet, 2001)



**Tableau 16** : Nombre annuel de cas confirmés de listériose entre 1997 et 2000. CNR *Listeria* et Déclarations Obligatoires. (Vaillant, 2004)

	1998 CNR/DO	1999 CNR+DO	2000 CNR+DO	Moyenne 1998 à 2000
<b>Cas materno-néonataux</b>				
<b>Nombre de cas*</b>	50	66	64	60
<b>Nombre de décès notifiés</b>	16	17	23	19
<b>% Létalité</b>	32 %	26 %	36 %	31 %
<b>Cas non materno-néonataux</b>				
<b>Nombre de cas identifiés</b>	172	204	197	191
<b>Nombre de décès notifiés</b>	30	47	28	35
<b>% Létalité</b>	17 %	23 %	14 %	18 %

\* Nombre de cas renseignés sur l'évolution de la listériose

*Voies de contamination :*

L'infection à *Listeria monocytogenes* se transmet à l'homme par :

- l'ingestion : -- d'aliments contaminés. (principale voie)
  - d'eau contaminée (voie de contamination supposée)
- le contact direct (animaux infectés : Rare ; transmission nosocomiale entre nouveaux-nés possible)



### 2.2.1.3.2.3. *Leptospira interrogans*

#### *Présentation :*

La leptospirose est une maladie infectieuse pouvant infecter l'homme et de nombreuses espèces animales.

L'espèce pathogène est *Leptospira interrogans*. La classification sérologique de cette espèce divise l'espèce en sérogroupes qui à leur tour se subdivisent en sérovars.

Les trois principaux sérovars pathogènes pour diverses espèces sont :

- Canicola (réservoir : porcs)
- Icterohaemorrhagiae (réservoir : rats)
- Hebdomadis (réservoir : bétail, souris, campagnols)

#### *Symptômes chez l'homme :*

Tout sérovar pathogène de leptospires est susceptible d'occasionner une leptospirose bénigne.

La forme sévère est habituellement occasionnée par des sérovars du groupe *icterohaemorrhagiae*.

La leptospirose se manifeste par un syndrome grippal important (céphalée, myalgies, fièvre, frissons) pouvant se compliquer d'une anémie hémolytique, d'une myocardite ou d'une défaillance rénale pouvant conduire à la mort. **(Comité de Santé Environnemental du Québec, 2000)**

La plupart des cas de leptospirose sont associés à la pratique d'un sport nautique (baignade, ski nautique) par contact primaire.

Le risque pour la santé publique lié à la gestion des épandages d'effluents d'élevage est difficile à apprécier.

#### 2.2.1.3.2.4. Entérocoques et entérococcies

Si les entérocoques ne sont pas considérés comme des pathogènes primaires, leur capacité d'acquisition de haut niveau de résistance à des agents antimicrobiens en a fait « d'excellents » pathogènes nosocomiaux infectant les patients hospitalisés plus fragiles (**Linden and Miller, 1999**)

L'utilisation largo manu des antibiotiques comme facteur de croissance a causé l'apparition de nombreuses résistances parmi les entérocoques d'origine animale et il est probable que cette résistance se soit étendue à la population humaine.

En Suède, au Danemark, en Espagne, au Royaume-Uni et en Allemagne, des effluents hospitaliers, urbains et animaux ont été prélevés afin de déterminer les populations d'entérocoques respectivement des patients hospitalisés, des personnes saines et des animaux. (**Kühn et al., 2003**)

Dans cette étude, les chercheurs ont calculé les coefficients de « Similarité » qui mesure la proportion de souches identiques au sein de 2 populations comparées. Plus il est élevé, plus la proportion de souches identiques est importante.

C'est ainsi que ce coefficient de similarité pour les fèces de cas cliniques d'entérococcie chez l'Homme est de :

- [0.15-0.25] avec les fèces de personnes en bonne santé
- [0.2-0.25] avec les effluents de porcherie
- < 0.02 avec les effluents de bovins

Si l'on peut présumer que les entérococcies chez l'homme ne résultent pas principalement de transmissions de souches d'entérocoques de bovins à l'homme, on ne peut pas en faire de même avec l'espèce porcine. En effet, si on se fie aux coefficients de similarité, on constate que les personnes présentant une entérococcie présentent autant de souches communes avec les fèces de personnes en bonne santé qu'avec les effluents de porcherie.

## 2.2.2. Quand un danger en cache un autre : la transmission de gène d'antibiorésistance

Les résistances bactériennes aux antibiotiques sont le résultat d'une utilisation intensive des antibiotiques à des fins médicales et agricoles. Leurs conséquences en sont les échecs thérapeutiques à la fois sur les humains et les animaux.

En ce qui concerne l'**utilisation vétérinaire des antibiotiques chez le porc**, il a été démontré qu'elle est **associée à la survenue de résistances microbiennes** à des antibiotiques sur des échantillons de fèces porcins et de ce fait à la création d'un réservoir de résistances animal. (Aarestrup et Carstensen, 1998 ; Bager et al., 1997)

### 2.2.2.1. Mécanismes de sélection de souches « antibiorésistantes »

L'usage des antibiotiques peut donc aboutir à la sélection de souches résistantes lors d'usage abusif ou incorrect (dose insuffisante et/ou durée insuffisante). Il est intéressant de noter que près de la moitié des agents antimicrobiens sont utilisés en Amérique du Nord à des fins agricoles. (Juteau, 2003)

On décrit classiquement deux mécanismes par lesquels l'usage vétérinaire des antibiotiques est responsable de l'apparition de bactéries résistantes.

Le premier est celui de la **sélection de bactéries résistantes dans la microflore de l'intestin** des porcs par le biais d'agents antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance à des doses de 10 à 100 fois plus faibles que leur dose thérapeutique.

Cependant, en Europe, la liste des antibiotiques utilisables comme facteur de croissance s'est réduite progressivement :

- 1995 : interdiction de l'avoparcine
- 1<sup>er</sup> janvier 1999 : interdiction de la bacitracine, de la spiramycine, de la tylosine et de la virginiamycine
- 1<sup>er</sup> janvier 2006 : interdiction des 4 derniers à être encore autorisés (le flavophospholipol, le monensin sodium, la salinomycine-sodium et l'avilamycine)

Le second mécanisme implique une **sélection des bactéries résistantes à l'extérieur de la flore digestive**, c'est-à-dire dans les effluents d'élevage ou dans le sol récepteur, **par la mise en contact de résidus d'antibiotiques et des bactéries environnantes**. (Hamscher et al., 2002)

Dans ces deux mécanismes, le résultat est le même : la dissémination dans l'environnement de bactéries possédant des gènes de résistance à des antibiotiques.

### 2.2.2.1.1. Deux exemples de sélection de bactéries résistantes dans la microflore de l'intestin des porcs

*1<sup>er</sup> exemple : Utilisation de tylosine et résistance aux macrolides*

**Aarestrup et Carstensen (1998)** ont étudié l'effet de la tylosine utilisée en tant que facteur de croissance dans l'alimentation des porcs, c'est-à-dire à faible dose (30 µg/g d'aliment).

Ils ont ainsi pu comparer sur 2 lots de 10 porcs (dont un lot témoin sans supplément de tylosine) la survenue de souches résistantes à un autre antibiotique de la même famille des macrolides que la tylosine : l'érythromycine.

Ils ont constaté une multiplication rapide et immédiate d'un facteur 2.4 de la proportion de la population d'entérocoques résistants à l'érythromycine dans les fèces porcines.

Ils constatent également une augmentation de la proportion des *Staphylococcus hyvius* présents sur la peau des animaux résistants à l'érythromycine. Cette augmentation (8 % par jour) est certes plus lente que les entérocoques mais elle aboutit en 20 jours à une croissance par un facteur 5 !

L'utilisation de la tylosine en tant que facteur de croissance chez le porc aboutit à la sélection de bactéries résistantes aux macrolides non seulement dans le tube digestif mais aussi sur la peau.

*2<sup>nd</sup> exemple : Utilisation de l'avoparcine et résistance à la vancomycine*

La vancomycine, anti-infectieux de la famille des glycopeptides, est réservé à l'usage hospitalier. En réalisant une étude rétrospective sur des cohortes de volailles et de porcs au Danemark, **Bager et al. (1997)** démontrent que l'utilisation d'un autre glycopeptide, à savoir l'avoparcine, en tant que facteur de croissance, favorise la sélection des souches d'*Enterococcus faecium* présentant un haut niveau de résistance à la vancomycine.

### 2.2.2.1.2. Dissémination et facteurs de transfert des gènes de résistance dans l'environnement (**Sengeløv et al., 2002**)

**Les épandages permettent une dispersion des bactéries résistantes dans l'environnement** autorisant de possibles transferts de gènes de résistance à des bactéries du sol. De plus, la présence dans le lisier épandu d'antibiotiques et/ou de résidus d'antibiotiques, donne un avantage sélectif aux bactéries résistantes.

**Les résistances aux antibiotiques sont souvent véhiculées par des plasmides pouvant être transférés entre bactéries au niveau tellurique.**

Ces transferts sont favorisés par :

- la présence de nutriments (**Top et al., 1990**)
- la présence de cellules parentées dans le sol
- la présence de végétaux, notamment des parties racinaires (la rhizosphère) pouvant servir de microhabitats

De ce fait, les terres cultivées recevant des épandages de lisiers porcins sont un environnement propice aux transferts de gènes de résistance par conjugaison. Ces terres cultivées constitueraient donc un possible réservoir de gènes de résistance qui pourrait affecter les hommes et les animaux par le biais des cultures.

### 2.2.2.1.3. Un exemple de persistance de résidus d'antibiotiques dans l'environnement : les tétracyclines

Lors d'une étude portant sur la recherche de résidus de tétracyclines sur un sol fertilisé par des effluents d'élevage, **Hamscher et al. (2002)** constatent que ces résidus s'accumulent aisément dans le sol.

En effet, avant épandage ils quantifient les concentrations de résidus dans l'effluent d'élevage et un mois après épandage, ils quantifient dans le sol les concentrations des mêmes résidus en fonction de la profondeur du sol (cf. Tableau 17).

**Tableau 17** : Accumulation de résidus de l'oxytétracycline dans le sol après épandage d'un effluent d'élevage (**Hamscher et al., 2001**)

Résidus	Concentration ( $\mu\text{g par kg}$ ) dans l'effluent épandu (Avril 2001)	Concentration ( $\mu\text{g par kg}$ ) dans le sol (Mai 2001)
Tétracycline	4000	86 (0 à 10 cm) 199 (10 à 20 cm) 172 (20 à 30 cm)
Chlortétracycline	100	4,6 à 7,3

Ainsi, selon les auteurs, de telles concentrations dans le sol s'expliqueraient par l'accumulation de résidus de tétracycline au fil des années et des épandages.

### 2.2.2.1.4. Persistance des gènes de résistance dans l'environnement

Dans une étude danoise (**Sengeløv et al., 2002**), les proportions de bactéries résistantes à la tétracycline ont été suivies suite à l'épandage de lisier porcin sur des terres cultivées. On constate une élévation de la prévalence de la résistance aux tétracyclines mais seulement temporairement puisque la proportion de bactéries résistantes décline rapidement pour retrouver les niveaux de résistance des sols non amendés par épandage après cinq mois. Ainsi, les bactéries résistantes issues de la flore intestinale des porcs ont survécu seulement pour un temps limité et la transmission de leur gène de résistance aux bactéries indigènes du sol a été absente ou si faible qu'elle n'a pu être responsable d'une élévation durable (au-delà de cinq mois) et détectable de la proportion des bactéries résistantes dans le sol.

D'autre part, les résidus d'antibiotiques présents dans le lisier porcin n'ont pas semblé favoriser l'apparition d'un milieu suffisamment sélectif (résidus d'antibiotiques en faible quantité) pour que les bactéries du sol transformées et nouvellement résistantes s'accumulent. Ces dernières, si elles ont existé, n'ont donc probablement pas survécu du fait de la compétition exercée par la population stable des bactéries indigènes.

Cependant, l'étude n'apporte pas d'élément sur l'effet que la quantité de lisier épandu pourrait avoir sur la survenue de résistance aux tétracyclines.

### 2.2.2.1.5. Existence de souches multirésistantes majeures

Si l'utilisation d'un antibiotique peut contribuer à l'émergence de souches bactériennes résistantes à l'antibiotique alors l'utilisation successive de plusieurs antibiotiques pourra contribuer à l'émergence de souches multirésistantes à l'ensemble des antibiotiques utilisés.

Ce principe de résistance « cumulée » peut être illustré par l'émergence de certaines souches multirésistantes qui, étant également pathogènes, ont fait parler d'elles ; la continuité de l'utilisation des antibiotiques ne faisant qu'accentuer l'effet de sélection positive.

On pourra citer en exemple de souches multirésistantes la bactérie *Salmonella* Typhimurium DT 104. Cette souche de salmonelle résistante à plusieurs antibiotiques classiquement utilisés dans le traitement de la salmonellose a fait parler d'elle ces dernières années. Elle a été reconnue comme une cause importante de diarrhée chez les animaux et les hommes au Canada, aux Etats-Unis et en Europe. **(Olson, 2001)**

## 2.2.2.2. Antibiorésistance et dangers sanitaires bactériens majeurs chez le porc et chez l'homme

### 2.2.2.2.1. *Escherichia coli* entérohémorragiques

Aux Etats-Unis, **Schroeder et al. (2002)** ont étudié la sensibilité à différents antibiotiques pour 361 souches du sérotype *Escherichia coli* O157 isolées entre 1985 et 2000 sur des aliments ou des fèces humains, bovins ou porcins (cf. Tableau 18)

Seules 58 % (210) des souches du sérotype O157 étudiées étaient des STEC (porteuses de gène *stx* codant pour une shiga-toxine).

Contrairement à d'autres agents pathogènes comme les salmonelles et les campylobacters, **les STEC** isolés montraient **peu de résistance** particulière **aux antibiotiques**. (22 souches résistantes sur 210 pour les STEC contre 113 sur 151 pour les « non STEC »)

D'autre part, les auteurs constatent que **le pourcentage de souches antibiorésistantes est plus important** pour les souches O157 isolées **chez le porc**.

**Tableau 18** : Résistance aux antibiotiques parmi les 361 isolats d'*Escherichia coli* O157 analysés aux Etats-Unis. (**Schroeder, 2002**)

Nombre de prélèvements							
Nombre d'antibiotiques auxquels une résistance a été constatée	Total (n = 361)	Avec le phénotype :		Origine du prélèvement			
		STEC (n = 210)	Non-STEC (n = 151)	Homme (n=131)	Bovin (n=133)	Porc (n=70)	Aliment (n=27)
0	220	182	38	95	102	4	19
1	27	4	23	7	9	9	2
2	60	16	44	20	15	19	6
3	28	6	22	3	6	19	0
4	19	0	19	5	0	14	0
5	3	0	3	1	0	2	0
6	2	1	1	0	1	1	0
7	1	1	0	0	0	1	0
8	1	0	1	0	0	1	0
>8	0	0	0	0	0	0	0

#### 2.2.2.2. *Salmonella* spp.

Un des objectifs du CNR des *Salmonella* est d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des souches de salmonelles isolées d'origine humaine ou non humaine (secteur « productions animales », secteur « Hygiène des Aliments » et secteur « Ecosystème naturel »)

La synthèse des données (Weill, 2004) sur l'antibiorésistance de ces souches permet de constater que la **résistance aux antibiotiques** est globalement **comparable entre les isolats humains et non humains**. (cf. Tableaux 19 et 20)

Le **sérotype Enteritidis** majoritairement isolé chez l'homme reste encore **très sensible**. En revanche, le **sérotype Typhimurium** présente un **taux élevé de résistances à différents antibiotiques**.

Cette résistance du sérotype Typhimurium est due à la part grandissante du clone DT104 ayant intégré les gènes lui conférant sa résistance à 5 antibiotiques dans son chromosome (AmSCTeSul).

*Remarque : Abréviations utilisées pour les profils de résistance : Am, amoxicilline/ampicilline ; S, streptomycine ; Sul, sulfamides ; Tmp, triméthoprimine ; C, Chloramphénicol ; Te, tétracycline*

Cependant, cette étude ne permet pas d'étudier spécifiquement les résistances des salmonelles chez le porc en France car les données correspondantes sont ici rapportées aux « souches non humaines ».

**Watabe et al. (2003)**, au cours d'une étude de 3 mois (entre février et avril 2002) portant sur les pathogènes présents dans les effluents d'un engraisseur porcin au Royaume-Uni, ont étudié les résistances des salmonelles isolées à des agents antibiotiques.

A partir des 25 résultats positifs de salmonelles, 29 isolats différents de *Salmonelle* ont fait l'objet d'une mise à l'épreuve à 12 agents antibiotiques. Des résistances ont été notées pour 5 d'entre eux :

- tetracycline (100%) ;
- sulphonamides (84,6%) ;
- furazolidone (38,5%) ;
- acide nalidixique (15,4%) ;
- streptomycine (15,4%).

58 % des isolats ont été résistants à au moins deux antibiotiques, 34,6 % l'ont été à au moins trois et 7,7 % l'ont été à au moins quatre...



**Tableau 19** : Evolution de la résistance entre 2000 et 2002 chez les 3 principaux sérotypes de *Salmonella* d'origine Humaine (H) et Non Humaine (NH) (Weill, 2004)

Antibiotique	% de souches résistantes											
	Enteritidis				Typhimurium				Hadar			
	2000		2002		2000		2002		2000		2002	
n N	H 4656	NH 1206	H 4469	NH 1126	H 3800	NH 2643	H 3998	NH 3159	H 787	NH 1408	H 282	NH 992
Amoxicilline/ampicilline	7,3	6,6	6,1	4,1	64,3	56,7	65,0	44,4	57,5	59,8	51,9	61,9
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0	0	0	0
Streptomycine	1,2	3,5	0	2,8	72,0	64,7	64,5	58,9	100	91,0	92,4	90,5
Gentamicine	1,2	0,4	0	0,4	1,0	0,7	0,3	0,9	1,2	0	0	1,0
Acide nalidixique	9,7	11,7	11,1	11,8	10,3	12,8	4,0	14,7	77,5	60,7	79,7	61,0
Ciprofloxacine/enrofloxacine	0	0	0	0	0	0,9	0,3	0,4	0	NT	0	1,9
Sulfamides	1,2	4,7	0	2,8	69,6	63,0	68,0	49,4	1,2	11,2	1,3	1,0
Triméthoprim	2,4	-	0	-	8,7	-	5,3	-	2,4	-	6,3	-
Sulfaméthoxazole-triméthoprim	-	2,3	-	1,2	-	7,9	-	7,1	-	2,8	-	0
Chloramphénicol	0	0,8	0	0,8	59,0	50,2	57,0	36,2	0	0,9	0	0
Tétracycline	12,1	14,0	3,0	8,1	81,2	77,7	71,0	55,0	98,7	93,2	91,1	89,5

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype recensées au CNR-Salm (H) ou à l'Afssa Maisons-Alfort (NH)

- : non testé

H : souches humaines

NH : souches non-humaines

**Tableau 20** : Evolution des profils de résistances principaux habituellement associés au lysotype DT104 parmi les souches de *Salmonella enterica* sérotype Typhimurium entre 2000 et 2002 d'origine Humaine (H) et Non Humaine (NH) (Weill, 2004)

Profils de résistance	Pourcentage des souches testées (IC 95 %)			
	2000		2002	
	H	NH	H	NH
Am S Sul C Te	51 (45,5-56,5)	37,9 (33,3-42,5)	48,8 (48,3-54,2)	3,16 (27,7-35,5)
Am S Sul C Te Nal	3,8 (1,7-5,8)	5,3 (3,2-7,4)	3,8 (1,7-5,8)	1,85 (0,7-3,0)
Am S Sul C Te Tmp	2,5 (1,0-4,5)	0,9 (0-1,8)	3 (1,1-4,9)	0,7 (0-1,4)
S Sul	1 (0,2-2,1)	0,2 (0-0,6)	2,8 (1,0-4,5)	0,9 (0,1-1,7)
Am Sul	0,3 (0-0,9)	0,2 (0-0,6)	1,5 (0,2-2,8)	1,3 (0,3-2,3)
<b>Total</b>	<b>58,6 (53,2-64,0)</b>	<b>44,5 (39,8-49,2)</b>	<b>59,75 (54,4-65,1)</b>	<b>36,35 (32,3-40,4)</b>

H : souches humaines

NH : souches non-humaines

### 2.2.2.2.3. *Campylobacter* spp.

Bien que dans la majorité des cas de campylobactériose chez l'Homme un traitement antibiotique ne soit pas indispensable, lors d'infection intestinale sévère, un traitement antibiotique est réalisé reposant essentiellement sur les macrolides, les fluoroquinolones et l'amoxicilline. Les résistances des campylobacters aux antibiotiques poseraient problème lors du traitement.

**Mégraud F. et Prouzet-Mauléon V. (2004)** établissent une synthèse des données d'antibiorésistance des *Campylobacter* isolés chez l'homme en France pour la période [1986-2002]. En effet, sur cette période, leur laboratoire (servant de CNR des *Campylobacter*) a réalisé sur cette période des tests de sensibilité à quelques antibiotiques (notamment Amoxicilline, Acide Nalidixique, Tétracycline et Erythromycine) sur les souches de *Campylobacter* isolées essentiellement de selles de malades hospitalisés.

La gentamycine reste le seul antibiotique pour lequel aucune résistance n'est apparue.

A partir des Figures 9 et 10, on notera :

- Une **résistance** globalement **plus élevée de *Campylobacter coli*** que de *Campylobacter jejuni* ;
- Une **augmentation des résistances aux quinolones** et à un moindre degré à la tétracycline.

Selon les auteurs, cette augmentation des résistances aux quinolones serait due à l'utilisation des fluoroquinolones non seulement en médecine humaine mais aussi en médecine vétérinaire (e.g. enrofloxacin), notamment en filières porcine et avicole, considérées comme des sources majeures de *Campylobacter*.

Il est cependant difficile de savoir dans quelles proportions la médecine humaine et la médecine vétérinaire sont responsables de cette évolution dans la mesure où l'utilisation des quinolones a commencé simultanément pour les deux médecines au début des années 1990.

**Avrain et al. (2004)** réalisent 600 prélèvements de fèces de porc (un seul porc par élevage) dans 10 abattoirs français et étudient la prévalence des *Campylobacter* et des résistances éventuelles aux antibiotiques. C'est ainsi qu'ils obtiennent 58,3 % (323) d'échantillons positifs à *Campylobacter* par isolement direct dont 98,1 % de *Campylobacter coli*.

Ils constatent également une proportion de résistance élevée des *Campylobacter* isolés chez le porc :

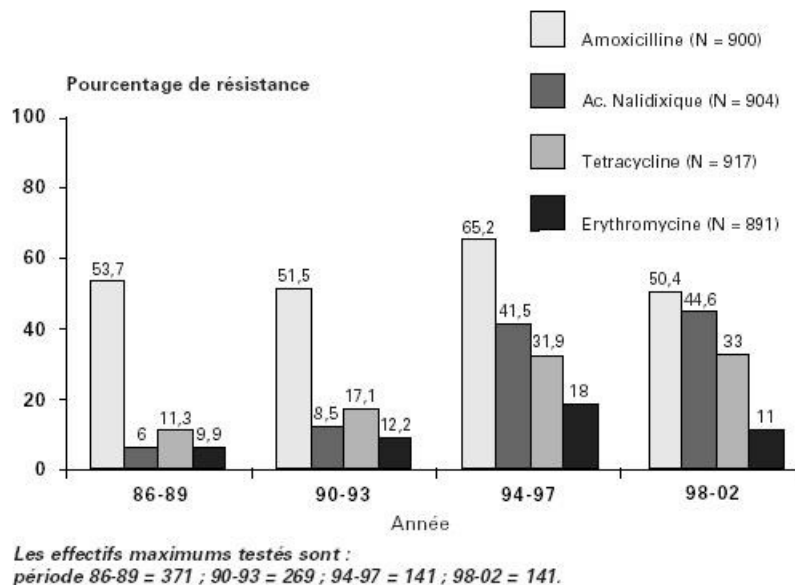
- 83 % à la tétracycline ;

*La résistance à la tétracycline pourrait être due à son utilisation dans les infections respiratoires*

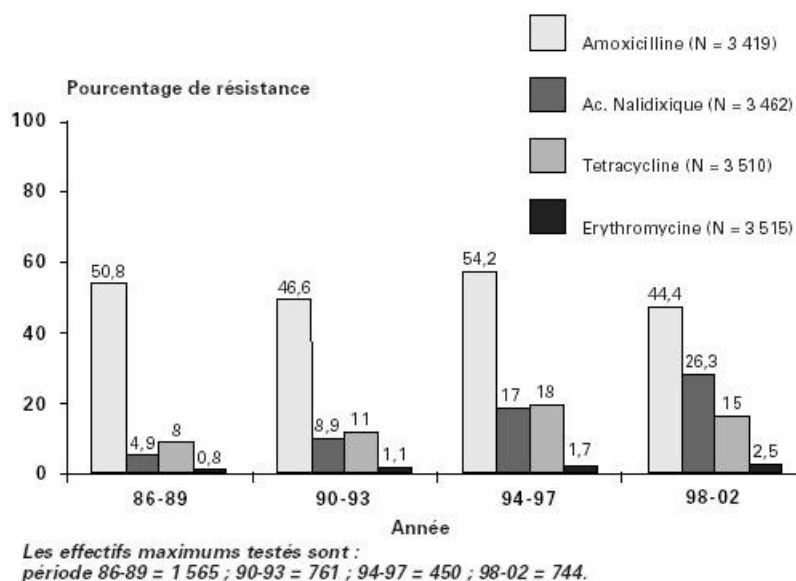
- 65 % à l'érythromycine.

*La résistance à l'érythromycine pourrait être due à l'utilisation d'un autre macrolide, la tylosine, non plus en tant que facteur de croissance (interdit depuis 1999) mais comme traitement des infections digestives ou respiratoires*

**Figure 9** : Evolution de la résistance aux antibiotiques des *Campylobacter coli* isolés chez l'homme en France de 1986 à 2002. (Mégraud, 2004)



**Figure 10** : Evolution de la résistance aux antibiotiques des *Campylobacter jejuni* isolés chez l'homme en France de 1986 à 2002. (Mégraud, 2004)



**Tableau 21** : Résistances à 6 antibiotiques de 317 souches de *Campylobacter coli* prélevés sur des porcs en abattoirs en France. (Avrain, 2004)

Antibiotique	% de souches résistantes de <i>Campylobacter coli</i>
Ampicilline	12
Acide nalidixique	20
Ciprofloxacine	12
Tétracycline	83
Erythromycine	65
Gentamicine	0

## **2.3. Exposition aux dangers sanitaires bactériens des rejets porcins**

Bien que les cas d'infection liés aux pathogènes évoqués ici surviennent pour la plupart de manière isolée et sporadique, ce sont les crises sanitaires qui, de part leur importance (et parfois leur médiatisation), sont retenus par la « mémoire collective » et font l'objet d'enquête épidémiologique.

En France, lorsque surviennent au moins deux cas d'infections suspectés d'avoir une origine alimentaire commune, une Déclaration Obligatoire (DO) d'une **Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC)** permet la **réalisation d'une enquête épidémiologique** et mobilise des médecins inspecteurs de santé publique des Directions départementales des affaires sanitaires et sociales (Ddass) et des vétérinaires inspecteurs des Directions départementales des services vétérinaires (DSV).

Cette enquête épidémiologique essaie d'identifier les aliments responsables et les facteurs favorisants.

**Aucune investigation particulière** n'est donc réalisée **pour les cas sporadiques** (hormis parfois dans le cadre de certaines études), ce qui ne permet pas de connaître leur source d'infection et d'évaluer le réel impact de chaque réservoir de pathogènes.

**La plupart des épidémies associées aux rejets animaux ont impliqué essentiellement les effluents bovins** ce qui a conduit à d'avantage d'études chez cette espèce que sur les porcs.

A ce jour, **peu d'épidémies ont été associées avec les déjections porcines.** (Guan et Richard, 2003)

### **2.3.1. Voies de contamination pour l'homme**

Comme nous l'avons vu lors de la présentation des principaux dangers sanitaires bactériens, les voies de contamination peuvent être :

- directes : Les cas de **contamination directe « animal à homme »** au sein des fermes **par contact** rapproché existent certainement.

- indirect par ingestion : contamination indirecte par le biais d'un support servant de véhicule aux pathogènes :

- l'eau contaminée (suite à épandage, fuite de la fosse à lisier et infiltration dans le sol...)

- les aliments souillés par les déjections animales

**Guan (2003)** donne dans le tableau suivant des exemples à travers le monde d'épidémies infectieuses liées aux effluents d'élevage en rappelant le nombre de cas et les circonstances ayant conduit aux infections groupées..

**Tableau 22 : Exemples où les déjections animales ont été impliqué comme source de pathogènes. (Guan, 2003)**

Année et pays	Espèce à l'origine des déjections contaminantes	Pathogène	« Véhicule » et circonstances	Cas (Mortalité)
1979-1981, Canada (Provinces Maritimes)	Ovin	<i>Listeria monocytogenes</i>	<b>Chou</b> cultivé dans des champs fertilisés par du fumier de mouton provenant d'un cheptel contaminé (2 brebis mortes de listériose)	34 cas de listériose périnatale et 7 autres
1985, UK	Bovin	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<b>Pommes de terre</b> cultivées dans un champ fertilisé par des déjections de vaches	49 (1)
1991, US (Massachusetts)	Bovin	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<b>Cidre de pomme</b> fraîchement pressé non pasteurisé réalisé à partir de pommes récoltées à même le sol, lui-même probablement contaminé	23 (0)
1992, US (Maine)	Bovin (déjections et carcasses)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<b>Légumes</b> cultivés dans le jardin privé du premier cas fertilisé durant l'été par du fumier provenant d'une vache et son veau	4 (1)
1992, "Afrique"	Bovin	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<b>Eau de surface</b> utilisée comme eau de boisson et contaminée par le lessivage de carcasses de bovin et du fumier consécutif à des pluies violentes	Des milliers de cas et quelques morts
1993, US (Milwaukee)	Bovin	<i>Cryptosporidium</i>	<b>Eau municipale</b> prélevée dans le Lac Michigan ayant été contaminée par une arrivée massive d'oocystes apporté par les rivières l'approvisionnant suite aux pluies de printemps et à la fonte des neiges	403 000
1993, US (Maine)	Bovin	<i>Cryptosporidium</i>	<b>Cidre de pomme</b> fraîchement pressé contaminé réalisé à partir de pommes récoltées à même le sol	160
1990, Allemagne	Porc	<i>Citrobacter freundii</i>	<b>Sandwichs</b> préparés avec du beurre contenant du persil contaminé provenant d'un jardin d'un particulier utilisant du fumier de porc	8 SHU, 8 gastroent., 20 cas asymptot. (1)
1995, Canada (Ontario)	Bovin	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Eau d'un puit peu profond d'une ferme laitière contaminé par le ruissellement et l'infiltration du lisier	1 cas de diarrhée hémorragique
1996, US (New York)	Volaille	<i>Salmonella</i> Hartford et <i>Plesiomonas shigelloides</i>	Aliments préparés avec de l' <b>eau</b> contaminée <b>provenant d'un puit</b> peu profond non protégé contaminé par le lessivage en surface d'un champs labouré et fertilisé par des déjections de volaille	30
1997, UK (Somerset)	<b>Bovin</b>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<b>Boue</b> contaminée dans un festival de musique en plein-air par le pâturage 2 jours avant d'un cheptel bovin (650 vaches) contaminé	8
1999, UK (Ecosse)	<b>Ovin</b>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<b>Eau de boisson non traitée</b> provenant d'une source non protégée où pâturent librement cerfs et brebis	6
2000, Canada (Ontario)	<b>Bovin</b>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 et <i>Campylobacter</i> spp.	<b>Eau municipale traitée</b> provenant d'un puit contaminé par l'entrée d'eau de pluies ayant lessivé les sols des fermes adjacentes consécutivement à des pluies violentes	1346 (6)
2001, Canada (Saskatchewan)	Animal ? Homme ?	<i>Cryptosporidium parvum</i>	<b>Eau potable municipale</b> provenant de l'eau de surface d'une rivière contaminée probablement en un point en amont	1907 (0)

## 2.3.2. Les infections liées à la contamination de l'eau potable

Parmi les facteurs concourant à la contamination, **les pluies survenant immédiatement après épandage seraient le facteur le plus influent sur la contamination bactérienne des eaux** et ce davantage que « le taux d'épandage » (Volume appliqué / Surface) ou que les conditions de travail du champ avant épandage (labouré ou non). (Joy et al., 1998)

### 2.3.2.1. Contamination des réseaux collectifs d'eau potable

**Des épandages à proximité des points de collectes et des réseaux de traitement, de potabilisation et d'adduction d'eau potable augmentent considérablement le risque de contamination de l'eau** par les eaux de ruissellement suite à de fortes précipitations. Ainsi, 2 exemples conséquents en Amérique du Nord font état de ce danger :

- Milwaukee dans le Wisconsin, US, printemps 1993 : on estime à 403 000 cas de diarrhée à *Cryptosporidium* et une centaine de morts durant les 2 années qui ont suivi suite à des complications chroniques. La crise sanitaire serait liée au passage des oocystes de *Cryptosporidium* au travers du système de filtration d'une des deux stations de traitement d'eau de Milwaukee. (Mac Kenzie et al., 1994 ; Guan et Richard, 2003)
- Ontario au Canada, printemps 2000 : 6 morts et 1346 cas répertoriés de contamination par *Escherichia coli* O157:H7 et *Campylobacter* spp suite, sur un puits d'une station de captage, à une contamination par les effluents d'un élevage bovin voisin dépassant les capacités de traitement (Health Canada, 2000)

En France, les épidémies associées à la contamination de l'eau de consommation concernent des cas de gastro-entérites d'origine parasitaire, bactérienne et virale dus à des pollutions accidentelles recensées au rythme de **un ou deux épisodes annuels** (Momas, 2004).

Mais les pollutions accidentelles ne sont pas le fait exclusif de contamination par les effluents d'élevage. Le réseau d'eau potable peut être contaminé par une interconnexion accidentelle avec le circuit des eaux usées.

Les dernières épidémies recensées ces dernières années en France, liées à la contamination microbiologique du réseau d'eau potable, sont :

→ en 2000

- dans le Lot (Gourdon), 1037 consultations pour gastroentérite ont été enregistrées (**Cournot, 2001**) ;

*Infection* : virale et bactérienne (*Campylobacter coli*)

*Cause* : Contamination fécale d'origine indéterminée (humaine ? animale ?) et défaillance du système de chloration

- en Alsace (Strasbourg), 53 consultations pour gastro-entérites et 60 000 habitants se sont vu interdire la consommation d'eau pendant une quinzaine de jours (**Deshayes, 2001**) ;

*Infection* : indéterminée (pas d'analyses précises de l'eau, pas d'analyses microbiologiques des selles)

*Cause* : Contamination fécale d'origine indéterminée (humaine ? animale ?)

→ en 2001, en Saône-et-Loire (Dracy-le-Fort) une épidémie a touché 600 personnes (**Di Palma, 2003**) ;

*Infection* : bactérienne (*Cryptosporidium parvum* génotype humain) et virale

*Cause* : Interconnexion avec le circuit des eaux usées

→ en 2003, dans l'Ain (Divone-les-Bains), 258 consultations pour gastroentérites ont été enregistrés. (**Gofti-Laroche, 2003**).

*Infection* : bactérienne (*Cryptosporidium* et *Shigella*), virale et protozoaire

*Cause* : contamination fécale, origine indéterminée

### **2.3.2.2. Contamination des points de collectes d'eau privés**

La contamination de l'eau de puits ou issue de point de collecte privé (source..) par infiltration des déjections animales est également envisageable.

Les infections occasionnées sont donc de nature sporadique et ne touchent le plus souvent que les individus les plus fragiles du foyer approvisionné par le point de collecte.

Cependant, aucune étude ne peut estimer l'importance de ces infections liées aux contaminations de points de collecte d'eau privés.

Pour démontrer la possibilité de cette voie de contamination, on peut citer le cas documenté par **Jackson et al. (1998)**. Dans cette enquête, une fillette de 16 mois originaire d'une ferme en Ontario au Canada ayant présenté une diarrhée à *Escherichia coli* O157:H7 se serait contaminée en ingérant l'eau du puit sans avoir eu de contact direct avec les bovins du cheptel de ses parents. L'étude du sous-sol de la ferme révéla une contamination probable du puit. D'autre part, *Escherichia coli* O157:H7 a été isolée sur 63 % des bovins de l'élevage. Le typage des isolats de *Escherichia coli* O157:H7 issus de l'eau du puit, des selles de l'enfant et des bovins par la méthode « pulsed field gel electrophoresis » ont montré qu'il s'agissait d'une seule et même souche.



### 2.3.3. Les infections liées à la contamination d'aliments par les rejets porcins

Les aliments, lorsqu'il y a eu contact à un point de la chaîne de transformation avec des déjections animales, servent de véhicule aux pathogènes.

Cette contamination primaire environnementale peut se produire :

- avant la récolte ou la livraison des produits végétaux et animaux
- au cours de la transformation du produit, de la fabrication des aliments ou de leur commercialisation

La plupart du temps, une étape de cuisson suffit à neutraliser le risque infectieux. Cependant, lors d'un concours de circonstance (aliment contaminé ET absence ou insuffisance de cuisson), on peut avoir des cas avérés de Toxi-Infection Alimentaire Collective.

On distingue les contaminations d'aliments :

- d'origine carnée (contamination par les matières stercoraires en abattoir)
- d'origine végétale (légumes, cultures maraîchères...).

C'est ce second cas qui nous intéresse particulièrement puisque l'origine de leur contamination peut être diverse :

- fumier contaminé utilisé en amendement des cultures
- lisier épandu sur cultures maraîchères contaminé
- eau de lavage des légumes contaminée

Des exemples documentés d'infections liées à la contamination d'aliments par les rejets d'élevage n'existent pas en France à ce jour.

Cependant, de tels exemples ont été constatés à l'étranger (cf. Tableau 22).

Les aliments en question comprenaient entre autre (entre parenthèses l'origine de l'effluent d'élevage) :

- des pommes de terre (bovin)
- du cidre de pommes (bovin)
- des légumes (bovin) : Une enquête portant sur une TIAC due à *Escherichia coli* O157:H7 dans le Connecticut et l'Illinois en Juin 1996 a montré la possibilité d'une contamination intermédiaire par les légumes. Dans le cas présent, un producteur de laitues fut mis en cause. Un réservoir bovin de *Escherichia coli* O157:H7 fut retrouvé à proximité des champs de laitues. (Hilborn et al., 1999)
- du persil (porcin) : Une Toxi-Infection Alimentaire par une souche de *Citrobacter freundii* « vérotoxigène » en Allemagne durant l'été de 1990 a affecté une école maternelle et un jardin d'enfants. Elle a provoqué 8 cas de gastroentérite suivi par 8 cas de Syndrome Hémolytique Urémique, la mort d'une personne et 20 cas asymptomatiques. Une souche identique a été retrouvée sur du persil utilisé dans les sandwiches consommés par les enfants. Ce persil était cultivé dans un jardin privé dans lequel du fumier de porc était utilisé. (Tschäpe et al., 1995)



## 2.4. Facteurs conditionnant les risques

### 2.4.1. Prévalence des bactéries potentiellement pathogènes dans les rejets porcins

Avant d'analyser la prévalence des bactéries potentiellement pathogènes, il convient de présenter l'étude d'**Hutchison et al. (2004)** sur laquelle repose une partie de ces données.

Dans cette étude britannique étoffée, des prélèvements d'effluent d'élevage ont été réalisés sur la période avril 2000 à Décembre 2002 interrompu de février à juillet 2001 par l'épisode de fièvre aphteuse. Ainsi, **plus de 1500 effluents** provenant **d'élevages de Grande-Bretagne** (1239 BV, 184 PC, 93 volailles, 33 OV) ont été classés :

- en « **effluent frais** » ou « **effluent stocké** »
- en « **effluent liquide** » ou « **solide** »

Il est à noter que pour chacun de ces types d'effluents, **un seul prélèvement par ferme** a été réalisé.

Sur ces prélèvements, des dénombrements bactériens ont été effectués concernant : *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157, *Listeria*, *Cryptosporidium* et *Giardia*.

**Tableau 23** : Pourcentage d'effluent d'élevage de Grande Bretagne contenant un agent de zoonose (**Hutchison et al., 2004**)

Agent zoonotique	Effluent bovin		Effluent porcin		Effluent aviaire		Effluent ovin	
	Frais (n=810)	Stocké (n=429)	Frais (n=126)	Stocké (n=58)	Frais (n=67)	Stocké (n=26)	Frais (n=24)	Stocké (n=9)
<i>Escherichia coli</i> O157	13,2	9,1	11,9	15,5	ND	ND	20,8	2/9
<i>Salmonella</i>	7,7	10,0	7,9	5,2	17,9	11,5	8,3	1/9
<i>Listeria</i>	29,8	31,0	19,8	19	19,4	15,4	29,2	4/9
<i>Campylobacter</i>	12,8	9,8	13,5	10,3	19,4	7,7	20,8	1/9
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5,4	2,8	13,5	5,2	ND	ND	29,2	0
<i>Giardia intestinalis</i>	3,6	2,6	2,4	1,7	ND	ND	20,8	0

ND = Non Déterminé

Si l'auteur retient **30 % comme pourcentage d'effluent d'élevage contenant au moins un agent pathogène**, dans son étude, plus d'un prélèvement sur 2 parmi les effluents bovins, ovins et porcins (soit 50,4 % sur 1456 prélèvements), contenait un niveau mesurable pour au moins un des agents pathogènes !

Le tableau suivant reprend les données de différentes études concernant la prévalence des principaux agents pathogènes présents dans les rejets porcins.

**Tableau 24 : Synthèse bibliographique de prévalence des principaux agents pathogènes dans les rejets porcins.**

Nature de l'effluent	Agent pathogène	N*	Positifs (%)	Prélèvements...	Référence
Lisier frais	<i>Escherichia coli</i> O157	126	11,9	aléatoires en élevage en Angleterre	Hutchison et al. (2004)
Lisier stocké		58	15,5		
Fèces	<i>Escherichia coli</i> O157	305	6	dans un abattoir aux Etats-Unis	Feder (2003)
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7		2		
Fèces	Recherche de gène stx (shiga-toxine) par PCR	88	17	dans 10 élevages En France	Vernozy-Rozand (2002)
Fèces	<i>Escherichia coli</i> O157	2114	0,6	en abattoir au Royaume-Uni	DEFRA (2004)
	STEC O157		0,3		
Lisier frais	<i>Salmonella</i> spp.	126	7,9	aléatoires en élevage en Angleterre	Hutchison et al. (2004)
Lisier stocké		58	5,2		
Fèces	<i>Salmonella</i> spp.	1923	7,9	dans 41 fermes au Québec	Letellier, (1999)
Fèces	<i>Salmonella</i> spp.	529	23,4	en abattoir au Royaume-Uni	DEFRA (2004)
Lisier frais	<i>Campylobacter</i> spp.	126	13,5	aléatoires en élevage en Angleterre	Hutchison et al. (2004)
Lisier stocké		58	10,3		
Fèces	<i>Campylobacter</i> spp.	600	53,8 % 317 <i>C. Coli</i> 3 <i>C. jejuni</i> 3 autres	(1 échantillon par élevage) dans 10 abattoirs en France	(Avrain 2004)
Fèces	<i>Campylobacter</i> spp.	528	69,3	en abattoir au Royaume-Uni	DEFRA (2004)
Fèces	<i>Yersinia enterocolitica</i>	2107	10,2	en abattoir au Royaume-Uni	DEFRA (2004)
Lisier frais	<i>Listeria</i> spp.	126	19,8	aléatoires en élevage en Angleterre	Hutchison et al. (2004)
Lisier stocké		58	19		
Fèces	<i>L. monocytogenes</i>	150	1,3	aléatoires dans 2 abattoirs en Italie	Bonardi (2002)
	<i>L. innocua</i>		14,7		
	<i>L. gray</i>		1,3		
	<i>L. seeligeri</i>		0,7		

N\* : Nombre de prélèvements

### 2.4.1.1. *Escherichia coli* entérohémorragique

**Hutchison et al. (2004)** obtient une prévalence du sérotype *Escherichia coli* O157 voisine de 12 % dans les effluents d'élevages porcins. Mais il ne recherche pas les souches produisant une « shiga-toxine ».

Or chez le porc, parmi les isolats de O157:H7, on isole rarement une souche produisant une « shiga-toxine » contrairement aux bovins où 99% des isolats de O157:H7 en produisent une. Du fait supplémentaire de la **faible prévalence du sérotype O157:H7 chez le porc**, on considère que le risque de contamination de l'homme par une source porcine est très faible. (**Olson, 2001**)

→ *Effet des saisons sur la prévalence des Escherichia coli O157:H7*

On constate un **effet non négligeable des saisons sur l'excrétion de *Escherichia coli* O157** puisque selon **Chapman et al. (1997)** cité par **Patriquin (2000)** on observe 38 % d'échantillons positifs de fèces de bovins prélevés en abattoir alors que ce taux chute à 4.8 % en hiver. Il est probable que cela soit le cas aussi chez le porc.

On peut ainsi constater que cette évolution saisonnière est semblable à celle des cas de SHU (Syndrome Hémolytique Urémique) chez l'Homme où le pic du nombre de cas se situe en été (cf. Figure 3).

→ *Effet de l'utilisation d'antibiotiques sur la prévalence des Escherichia coli O157:H7*

Dans une étude portant sur les bovins (4 fermes dans le Wisconsin, une cohorte de 15 génisses par ferme) **Shere et al. (1998)** cité par **Patriquin (2000)** étudie l'installation de *Escherichia coli* O157:H7 dans le tube digestif des bovins en prélevant hebdomadairement pendant 14 mois des échantillons de fèces. C'est ainsi qu'ils constatent que dans les 2 élevages utilisant régulièrement les antibiotiques dont les sulfamides les cohortes ressortent positives. Ceci n'est pas le cas des deux autres élevages qui n'utilisent qu'occasionnellement les antibiotiques et nullement les sulfamides.

Ainsi selon les auteurs, **l'utilisation des antibiotiques serait un facteur de risque pour l'installation de *Escherichia coli* O157:H7** dans le tube digestif des bovins. Cela pourrait être le cas aussi chez le porc.

#### **2.4.1.2. *Salmonella* spp.**

A ce jour, on ne dispose pas d'étude en France permettant d'estimer la prévalence des salmonelles dans les déjections porcines.

Une étude québécoise (**Letellier, 1999**) obtient à partir de 1923 prélèvements réalisés dans 41 fermes porcines :

- 7,9 % d'échantillons positifs à *Salmonella* spp. ;
- 70,7 % (29 / 41) d'élevages ayant au moins un prélèvement de fèces positif !

#### **2.4.1.3. *Campylobacter* spp.**

**Avrain et al. (2004)** établit une « photographie » intéressante du portage de *Campylobacter* spp. par les porcs en France. En réalisant 600 prélèvements de fèces de porc en ne prenant qu'un seul échantillon par élevage, l'étude obtient près de 54 % d'échantillon positifs avec majoritairement *Campylobacter coli* (98 % des échantillons positifs).

## 2.4.2. Survie des bactéries après épandage

La plupart des pathogènes se sont adaptés à un hôte particulier et le milieu extérieur leur est plutôt hostile. Leur survie y est variable et est conditionnée par les caractéristiques physico-chimiques de ce milieu.

La survie des bactéries est conditionnée notamment par le temps écoulé, le pH et la température du milieu, le pourcentage de matière sèche, la composition chimique et microbiologique du milieu les environnant. Certaines bactéries sont également sensibles à la présence d'oxygène. (Olson, 2001 ; Pell, 1997)

Il est avéré que le temps accordé de stockage des effluents d'élevage (soit en tant que lisier, soit en tant que fumier) permet une diminution significative de la charge en pathogènes (cf. 3.1.1.1.). **La quantité de pathogènes épandue sur le sol n'est donc pas celle issue directement des fèces mais celle résultant des étapes de stockage et de traitement des effluents.** (Olson, 2001)

Pour évaluer la capacité de survie d'une bactérie dans un milieu donné, deux possibilités se présentent :

- mesurer le temps nécessaire pour ne plus détecter la bactérie introduite ;  
Cela permet d'avoir la certitude de la quasi élimination des pathogènes mais cela ne rend pas compte de la vitesse de décroissance et peut exagérer le temps nécessaire et suffisant pour réduire la population bactérienne car la réduction n'est pas linéaire.
- mesurer la vitesse de réduction en calculant par exemple les « D value » ou « temps nécessaire pour réduire une population donnée d'un log<sub>10</sub> soit de 90 % ».

### 2.4.2.1. Nature du milieu et température

En général, **la survie des bactéries pathogènes est considérablement réduite sur un sol sec et à température élevée.** (Patriquin, 2000)

*Escherichia coli* O157:H7 et *Salmonella* peuvent survivre une longue période sur un sol gelé et beaucoup plus longtemps qu'à température élevée. (Olson, 2001)

*Escherichia coli* et *Salmonella* peuvent pénétrer dans le sol jusqu'à 160 à 180 cm de profondeur après épandage. (Plachà et al., 2001)

Il apparaît que **les salmonelles et *E. coli* O157:H7 survivent mieux en milieu liquide qu'en milieu solide à de chaudes température (20 à 37°C).** Cette situation s'inverse à faible température (4°C). (Himathongkham et al., 1999 ; Guan et Richard, 2003)

C'est pourquoi **un stockage à température élevée et un épandage durant les mois chauds sont défavorables aux pathogènes.** Il convient de prendre en compte lors de l'épandage également les risques de précipitations (cf. 2.4.3.)

Le tableau 25 de la page suivante est extrait d'une revue élaborée par **Guan et Richard (2003)**.

De tous les pathogènes considérés (cf. Tableau 25), il semblerait que ***Escherichia coli* O157:H7 et *Salmonella* spp.** soient **les plus résistantes dans les rejets bovins** et ce quelle que soit la forme (liquide ou solide). Inversement, ***Campylobacter* spp. et *Giardia*** semblent être **plus fragiles** dans les mêmes milieux. Cependant il convient de nuancer par le faible nombre de références sur la résistance de ces derniers pathogènes et par le fait que ces études ne concernent pas les effluents porcins.

**Tableau 25** : Survie des pathogènes entériques dans des environnements naturels (données en jours) et dans les effluents bovins. Synthèse bibliographique établie à partir de 17 références. (**Guan et Richard, 2003**)

Milieu	Température °C	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Giardia</i>	<i>Cryptosporidium</i>
Eau	- 4					< 7	> 84
	4 à 8	> 91		448	8 – 120	77	> 84
	20 à 30	49 – 84	45 – 152	10	< 2	14	70
Sol	- 4					< 7	> 84
	4 à 6	99	63		20	49	56
	20 à 30	56	> 45	10	10	7	28
Fumier bovin	- 20 ou - 4	> 100 à -20°C				< 7	> 84
	4 à 5	70 à 5°C			12 – 21 (fèces humains)	7	56
	20 à 37	56 à 22°C 49 à 37°C	48 à 37°C		3	7	28
Lisier bovin	4, 20 ou 37	27 – 60	> 60 à 4 et 20°C 19 à 37°C		3		

#### 2.4.2.2. Conditions microbiologiques du milieu

**Jiang et al. (2002)** remarquent que la stérilisation d'un sol (passage à l'autoclave) permet l'allongement notable de la survie d'*Escherichia coli* O157:H7 suite à l'épandage d'un fumier contaminé : plus de 231 jours à 21°C sur un sol stérile.

Ainsi, les micro-organismes indigènes du sol contribuent notablement au déclin des pathogènes provenant de l'effluent d'élevage épandu.

Cette compétition entre les micro-organismes du sol et les pathogènes apportés par les effluents se manifeste dès l'épandage puisque les microbes du sol détruisent aussitôt la plupart des pathogènes et explique pourquoi **la survie des bactéries pathogènes est considérablement réduite sur un sol non stérile** par rapport à un sol stérile. (**Patriquin, 2000 ; Olson, 2001**)

### 2.4.2.3. Survie après épandage

**Hutchison et al. (2005)** ont réalisé une étude sur la survie d'agents pathogènes après épandage sur pâture. Ces agents pathogènes ont été introduits dans les effluents d'élevage avant l'épandage puis ces effluents ont été épandus sur des pâtures sans enfouissement.

Le niveau d'inoculation de chaque pathogène réalisé est :

- d'environ  $10^6$  micro-organismes par gramme d'effluent pour les bactéries
- de  $5 \times 10^8$  ookystes de *Cryptosporidium parvum* pour 25 à 40 kg d'effluent.

Les tableaux ci-dessous résument les résultats des réductions des pathogènes obtenus.

Les valeurs ont été obtenues à partir des résultats expérimentaux obtenus sur 2 années. Elles ont été calculées à partir du suivi des réductions des populations durant les 32 jours ayant suivi l'épandage. Les données obtenues sont les moyennes des trois expérimentations menées au cours de 2 étés et d'un printemps.

Ainsi, en moyenne, **en moins de 2 jours après épandage**, la population des **agents pathogènes épandus** est **divisée par 10** (cf. Tableau 26). Cependant, **les durées les plus longues enregistrées** jusqu'à l'absence de détection d'agent pathogène **vont de 16 à 63 jours selon le pathogène et le type d'effluent** (fumier ou lisier de porc) (cf. Tableau 27).

→ *Escherichia coli*

L'étude de **Avery et al. (2003)** vise à connaître l'évolution d'*Escherichia coli* déposé directement sur la pâture via les fèces de bovins, d'ovins et de porcins.

Quelle que soit l'espèce de bétail, *Escherichia coli* libérés par les fèces peuvent survivre sur l'herbe au moins 5 à 6 mois laissant le temps aux souches pathogènes de contaminer les animaux, les végétaux ou l'eau.

Le temps de Réduction Décimal pour *Escherichia coli* sur pâture est de 36 jours pour les bovins et 38 pour les ovins. Ce temps passe à 26 jours pour les porcins. Cette différence de rapidité de déclin d'*Escherichia coli* tient certainement aux différences physiologiques de souches d'*E. coli* et/ou aux différences chimiques des fèces.

Cependant, si certaines différences physiologiques entre souches semblent affecter leur survie (**Avery et al., 2003**), chez *Escherichia coli* O157:H7, la présence ou non d'un gène codant pour une « shiga toxine » type 1 ou 2 n'aurait que peu ou pas d'influence (**Kudva et al., 1998**), ce qui signifierait qu'une souche STEC ne serait pas plus résistante dans le milieu extérieur qu'une autre.

→ *Salmonelles*

Au Danemark, dans une exploitation porcine présentant des infections récurrentes à *Salmonella enterica*, des échantillons de sol réalisés immédiatement après épandage de lisier ont été réalisés. Puis, sur les échantillons de sols « positifs » aux salmonelles, des analyses hebdomadaires ont été effectuées jusqu'à la première analyse négative. Ainsi, sur 10 sols « positifs » à J0, tous l'étaient encore à 7 jours, 5 à 14 jours et aucun à 21 jours.

L'isolement de *Salmonella* au sol plus de 14 jours après épandage d'un lisier contaminé représente un grand facteur de risque de contamination notamment pour les animaux de rente via le pâturage. (Baloda et al., 2001)

L'étude de Henry et al. (1995) citée par Plachà et al. (2001) fait état d'une survie bien supérieure des salmonelles puisque ils en isolent jusqu'à au moins 2 mois sur pâture et 8 mois dans le sol après un épandage d'un lisier porcin contaminé.

Allant dans le même sens, l'étude de Islam et al. (2004) constate que si l'eau d'irrigation ou le compost de fumier sont contaminés par *Salmonella typhimurium*, alors ils sont susceptibles, par leur utilisation, de contaminer en salmonelles le sol et les racines végétales de cultures maraîchères (carottes, radis) pour plusieurs mois.

**Tableau 26** : Temps nécessaire pour une réduction d'un Log<sub>10</sub> des populations des agents pathogènes après épandage d'effluent d'élevage sur pâtures en été. (Hutchison, 2005)

Source	Type d'effluent	D values (jours) <sup>a</sup>			
		Salmonellae	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>
Vaches laitières	Fumier	1,79	1,47	2,97	2,31
	Lisier	1,61	1,63	2,01	2,65
	Eaux d'égout	1,34	1,31	1,82	2,33
Bovins	Fumier	1,62	1,49	1,72	3,05
	Lisier	1,45	1,56	1,86	1,85
Porc	Fumier	<b>1,81</b>	<b>1,45</b>	<b>3,20</b>	<b>1,87</b>
	Lisier	<b>1,86</b>	<b>1,70</b>	<b>2,80</b>	<b>1,86</b>
Volaille	Litière	1,77	1,63	2,13	2,53
Ovins	Fumier	1,58	1,58	2,24	2,17

<sup>a</sup> : Les valeurs ont été calculées à partir du suivi des réductions des populations durant les 32 jours ayant suivi l'épandage.

« Eaux d'égout » : effluents composés non seulement des déjections animales mais aussi des eaux blanches (lait, eaux de lavage de la salle de traite et détergents).

**Tableau 27** : Durées les plus longues enregistrées jusqu'à l'absence de détection d'agent pathogène sur les pâtures. (Hutchison, 2005)

Source	Type d'effluent	Durée les plus longues de détection				
		Salmonellae	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Cryptosporidium parvum</i>
Vaches laitières	Fumier	42	16	128	42	30
	Lisier	63	32	42	63	30
	Eaux d'égout	42	32	128	32	30
Bovins	Fumier*	63	32	63	63	30
	Lisier*	32	32	63	32	30
Porc	Fumier	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>63</b>	<b>32</b>	<b>30</b>
	Lisier	<b>16</b>	<b>32</b>	<b>63</b>	<b>16</b>	<b>30</b>
Volaille	Litière	63	32	42	42	30
Ovins	Fumier	16	63	128	16	30

\* : Les données proviennent des expérimentations estivales seulement.



### 2.4.3. Les conditions météorologiques

L'impact environnemental des effluents d'élevage après épandage est d'autant plus important qu'un lessivage par les pluies se produit (**Saini et al., 2003**).

Quatre paramètres importants caractérisent les pluies suivant l'épandage :

- le délai de survenu de la première pluie après épandage ;
- l'intensité de la première pluie ;
- la durée de la première pluie ;
- la fréquence des pluies.

Dans l'étude de **Saini et al. (2003)**, une souche d'*Escherichia coli* exprimant une protéine fluorescente verte (souche *Escherichia coli* RS2G) a été ajoutée à du lisier porcin afin de servir d'indicateur de contamination. Ce dernier a été appliqué en laboratoire sur des « trognons » de sol afin de modéliser l'épandage grandeur nature et les précipitations par arrosage artificiel survenant à intervalles variables sur 3 types de sol :

- sol travaillé (labouré) ;
- sol non travaillé ;
- sol avec épandage et enfouissement.

Les eaux de ressuyages ont fait l'objet d'analyse quantitative de concentration en *Escherichia coli* RS2G.

Ci-dessous sont rappelées les principales constatations de l'étude :

- La méthode de travail du sol (labouré ou non, épandage et enfouissement) influe sur le volume du liquide de lessivage recueilli (avec un volume de lessivage moindre lorsque le lisier est enfouit dans le sol) ;
- La méthode de travail du sol n'a pas d'effet sur la concentration des micro-organismes dans les eaux de ruissellement ;
- La première pluie lessive la plus grande partie des micro-organismes ;
- Plus le délai de survenue de la première pluie est court, plus la concentration de micro-organismes dans le liquide de lessivage est élevée.

#### **2.4.4. Les conditions géologiques**

L'importance de l'impact environnemental sera non seulement fonction de la quantité et de la composition des effluents rejetés mais aussi fonction du milieu géologique au-dessus duquel les épandages sont effectués.

En effet, la nature du sol conditionnera le transport des micro-organismes en son sein, soit en facilitant les déplacements, soit en les limitant.

Le milieu dit « karstique », c'est-à-dire « calcaire », illustre bien ce phénomène.

En effet, en surface, ce milieu est dépourvu de cours d'eau et les eaux de pluie s'écoulent par l'intermédiaire d'innombrables fissures, failles et joints de stratification dans la roche calcaire érodée par l'acide carbonique dissous présent dans ces eaux pluviales.

Ce cheminement des eaux, du fait de sa rapidité et de l'absence de filtration, rend le milieu « karstique » d'autant plus sensible aux pollutions.

Ainsi, les résurgences de fonds de vallée de plateau calcaire et les captages d'eau de consommation directement dans le karst seront d'autant plus vulnérables.

Dans un milieu sensible comme celui-ci il conviendra de restreindre l'épandage des effluents d'élevage dans le temps. Des décisions d'interdiction complémentaires pourront être prise localement dans les Règlements Sanitaires Départementaux. (cf. 1.3.).

### **3. Contrôle de la population microbienne des rejets porcins par stockage et traitement**

#### ***3.1. Les systèmes de traitement des rejets porcins***

Le stockage d'effluent d'élevage est considéré comme une stratégie efficace de réduction de la charge en agents pathogènes des effluents d'élevage avant épandage (Hutchison et al., 2005).

Lorsqu'il concerne le fumier, c'est-à-dire des effluents de nature solide, le stockage aboutit à un effet de compostage avec une montée en température à 50 ou 70°C permettant de réduire notablement la population des agents pathogènes.

Cependant, une bonne part du volume des effluents d'élevage est sous forme liquide et ne peut pas bénéficier de cet effet de compostage lors de son stockage.

#### **3.1.1. En élevage sur caillebotis**

La majorité des élevages disposent d'un système de stockage du lisier de plusieurs mois fonctionnant en apport continu. Certains épandent directement le produit du stockage d'autres disposent d'un système de traitement supplémentaire leur permettant de diminuer la charge azotée de leur lisier, de compenser le manque de surface pour épandage et de respecter ainsi les exigences environnementales réglementaires.

Pour limiter le volume des ces effluents à traiter, les apports d'eau doivent être limités :

- eaux de pluie (fosse de stockage couverte) ;
- eaux d'évacuation (système de « lisier sans eau », cf. 1.1.) ;
- eaux de lavage.

### 3.1.1.1. **Survie des bactéries au cours du stockage des déjections porcines**

Parce que le lisier ne peut pas être épandu sur sol gelé, les éleveurs doivent pouvoir stocker le lisier en attendant le moment ou les besoins des cultures. Lors de ce stockage, les variations physico-chimiques évoluant avec notamment une réduction de la teneur en azote total et ammoniacal, on a une réduction des populations bactériennes au cours de la durée d'entreposage.

→ *Etudes sur la survie des micro-organismes au cours du stockage :*

L'étude de **Bisaillon et al. (1984)** permet de constater **que les comptages bactériens ne changent pas en fonction de la profondeur** des prélèvements effectués **dans la fosse de stockage**.

En effet, contrairement à ce que l'on aurait pu s'attendre, on ne constate ni plus d'aérobies en surface de la fosse ni plus d'anaérobies à 2 mètres de profondeur. Ceci s'explique notamment par le fait que le lisier simplement entreposé est un milieu anaérobie, y compris en surface où la consommation rapide de l'oxygène par les micro-organismes anaérobies facultatifs permet d'y entretenir les conditions de l'anaérobiose.

Dans l'étude de **Hutchison et al. (2004)**, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* O157, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* et *Cryptosporidium parvum* ont été inoculé dans différents effluents d'élevage en début de stockage. L'étude de leur évolution a permis d'établir les temps de réduction décimaux qui vont de 6 à 44 jours pour les bactéries et de 133 à 345 jours pour *Cryptosporidium parvum* (cf. Tableau 28).

Parmi les bactéries, le **déclin de *Campylobacter jejuni* fut plus rapide** que les autres. Celui de ***E. coli* O157 fut le plus lent**.

→ *Conjugaison de la durée de stockage et de l'effet des saisons :*

L'étude de **Plachà et al. (2001)** vise à évaluer les effets de saisons sur la survie de *Salmonella typhimurium* et de micro-organismes indicateurs au court du stockage de la fraction solide du lisier.

Elle aboutit à la conclusion que la survie de *Salmonella typhimurium* et des micro-organismes indicateurs est considérablement affectée par la température puisque ainsi, *Salmonella typhimurium* peut survivre plus de 26 jours en été et 85 jours en hiver – printemps.

Il faut ajouter l'effet de la modification du pH du milieu puisque la chute des populations de salmonelles correspond au moment où le pH connaît sa plus forte baisse...

**Tableau 28** : Temps de réduction décimaux calculés à partir d'une régression linéaire des pathogènes pour différents effluents d'élevage liquides.

(Hutchison, 2004)

Source	Type d'effluent	D values (jours)				
		Salmonellae	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Cryptosporidium parvum</i>
ETE						
Porc	Lisier de naisseur	23,5	20,0	13,4	14,4	133
	Lisier engraisseur	25,6	25,2	22,7	11,4	345
Vaches laitières	Lisier (%MS élevé)	6,8	6,5	9,5	7,1	333
	Lisier (%MS faible)	8,9	11,6	10,6	10,4	208
	Eaux d'égout	9,0	8,2	-	9,9	312
Bovins	Lisier (%MS élevé)	18,5	44,1	10,9	15,5	250
	Lisier (%MS faible)	17,4	22,4	13,7	6,9	154
HIVER						
Porc	Lisier de naisseur	15,2	19,1	16,1	7,7	217
	Lisier engraisseur	14,9	18,9	14,1	7,2	270
Vaches laitières	Lisier (%MS élevé)	11,8	33,3	9,4	8,2	250
	Lisier (%MS faible)	7,3	25,4	16,0	12,3	-
	Eaux d'égout	11,6	12,8	20,0	10,0	-
Bovins	Lisier (%MS élevé)	16,9	34,6	10,8	15,5	89
	Lisier (%MS faible)	17,0	18,1	13,5	13,0	227

MS : Matière Sèche

- : indique que le calcul n'a pas permis d'obtenir une valeur fiable.

### 3.1.1.2. Effets de différents systèmes de traitement des lisiers sur la survie bactériologique

La première intention des systèmes de traitement présents dans certains élevages n'est pas la réduction microbienne mais la réduction des quantités d'azote produites afin de respecter la réglementation concernant les épandages agricoles.

La concentration en Matière Organique Facilement Dégradable étant beaucoup plus grande dans le lisier que dans les eaux usées, les équipements de traitements des eaux usées sont donc inadéquats au traitement des lisiers (Juteau, 2003).

Le traitement souhaitable doit permettre :

- de séparer les phases liquide et solide ;
- de stabiliser et d'éliminer les odeurs ;
- de détruire les pathogènes.

Ces techniques de traitement du lisier reposent sur des techniques physico-chimiques et biologiques.

Ces différents systèmes de traitement intègrent pour bon nombre d'entre eux une étape de séparation des phases solide et liquide préalable. Cette étape permet l'obtention d'une fraction solide riche en azote organique et en phosphore et capable de se composter facilement.

La fraction liquide est ensuite traitée biologiquement afin de poursuivre la réduction des concentrations en azote et en matière organique (DCO).

Les traitements biologiques les plus fréquemment utilisés sont :

- Le traitement aérobie en « boues activées » ;
- Le traitement anaérobie par lagunage ;
- Le traitement anaérobie à l'aide d'un « méthaniseur » : ce procédé ne permet pas de réduire la quantité d'azote mais produit du « biogaz » pouvant être valorisé en chauffage ou en électricité ;
- Le compostage de lisier : il consiste à ajouter du lisier sur un substrat carboné (lisier ou paille) en vue de réaliser un compostage.

→ Séparation des phases et répartition des bactéries :

Chez un engraisseur au Royaume-Uni, des recherches d'agents potentiellement pathogènes ont été effectuées par Watabe et al. (2003) sur 3 mois entre février et avril 2002 sur du lisier « entier » et sur les fractions liquide et solide consécutives à la séparation des phases.

Les agents recherchés étaient : *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp, *Escherichia coli* O157 et *Yersinia enterocolitica*.

Les résultats positifs n'ont concerné que *Salmonella* spp et *Campylobacter* spp.

On constate une rupture dans la répartition des Salmonelles et des Campylobacter avec une réduction conséquente dans le compartiment solide. Cette plus faible prévalence dans la fraction solide est due en partie aux différences physico-chimiques avec notamment des valeurs élevées de pH (8,0 – 9,0).

**Tableau 29** : Rupture de la distribution des pathogènes fécaux dans les 3 constituants du lisier porcin (**Watabe et al., 2003**)

Nature de l'effluent	Nombre de prélèvements	Positifs à <i>Campylobacter</i> (%)	Positifs à <i>Salmonella</i> (%)	Serovar de <i>Salmonella</i> (n)
Lisier avant séparation	14	4 (29)	10 (71)	<i>derby</i> (1), <i>give</i> (1), <i>manhattan</i> (8), <i>simi</i> (1)
Fraction solide	16	0	4 (25)	<i>anatum</i> (1), <i>heidelberg</i> (2), <i>manhattan</i> (1), <i>stanley</i> (1)
Fraction liquide	13	5 (38)	11 (84)	<i>anatum</i> (1), <i>derby</i> (1), <i>give</i> (2), <i>heidelberg</i> (1), <i>manhattan</i> (6), <i>simi</i> (2)
<b>Total</b>	43	9 (21)	25 (58)	29 isolats, 7 serovars différents

→ *Le traitement aérobie en « boues activées »*

L'aération du lisier est une méthode efficace pour contrôler notamment les salmonelles, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria* spp., les coliformes fécaux et les entérocoques. (**Heinonen-Tanski et al., 1998**)

Les salmonelles croissent fort bien dans le milieu anaérobie du tractus digestif. Les salmonelles dans les lisiers d'élevage peuvent être détruites rapidement par aération lors du stockage y compris à faible température sous condition d'un stockage à circuit fermé, c'est-à-dire sans apport continu de lisier « frais ».

Bien qu'elles soient aérobies facultatives, les expériences en laboratoire ont confirmé ce fait : l'aération du lisier stocké a fait chuté la population de *Salmonella infantis* en dessous du seuil de détection.

Ceci peut s'expliquer par deux faits :

- il existe une flore aérobie qui entrant en compétition avec les salmonelles produisent à partir des composants du lisier des métabolites (comme l'ammonium) conduisant à une élévation du pH défavorable aux salmonelles ;
- les protozoaires, organismes aérobies, sont des prédateurs des salmonelles (**Glaus et Heinemeyer, 1994**). L'aération du lisier concourrait à cette prédation.

Lorsqu'un traitement hygiénique est imposé avant épandage, notamment lors d'un problème sanitaire survenant en élevage porcin, une aération du lisier préalable à l'épandage comme méthode d'assainissement est préférable au traitement par la chaux :

- son coût est plus faible ;
- elle ne produit pas de poussière et ne cause pas de problème de précipitation sur les parois des tonnes à lisier ni sur les pompes ;
- elle préserve 90 % environ de l'azote.

En analysant l'effet sur les populations bactériennes aérobie et anaérobie de l'aération du lisier à différentes températures, l'étude de **Zhu et al. (2002)** constate une réduction de 75% de la population aérobie lorsque la température passe de 15 à 25°C. Simultanément, le potentiel d'oxydo-réduction diminue de +40 mV à -60mV. D'autre part, à 25°C, les comptages des bactéries anaérobies restent régulièrement supérieur aux comptages des bactéries aérobies.

→ *Traitement anaérobie à l'aide d'un « méthaniseur » :*

La survie de bactéries pathogènes a été étudiée au cours d'une digestion en milieu anaérobie et mésophile au sein d'un digesteur de grande envergure à 28°C. **(Kearney et al., 1993)**

Les temps de réduction décimal de la population bactérienne calculés étaient :

- *Escherichia coli* 76,9 jours
- *Yersinia enterocolitica* 18,2 jours
- *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* : temps intermédiaires entre les deux précédents
- *Campylobacter jejuni* 438,6 jours

*Escherichia coli* et *Campylobacter jejuni* sont les bactéries les plus résistantes avec ce mode de traitement.

→ *Les neutralisateurs d'odeurs peuvent-ils jouer un rôle dans les réductions de population ?*

Certains fabricants de neutralisateurs d'odeurs commercialisés pour les lisiers utilisent comme argument publicitaire le pouvoir d'inhibition voire de destruction des pathogènes. L'étude de **Johnston et al. (2002)** examine la capacité d'inhiber voire de détruire *Escherichia coli* pour 10 neutralisateurs d'odeurs.

Aux concentrations recommandée par les fabricants, aucun ne réduit la population d'*Escherichia coli*. Lorsque l'on décuple les doses, un seul neutralisateur présente un effet significatif sur la population bactérienne étudiée.



### 3.1.2. En élevage sur litière

L'élevage sur litière a bonne presse du fait notamment de ses atouts sur le bien-être animal. Cependant, le compostage qui s'en suit n'est pas anodin pour l'environnement :

- le phosphore n'est pas diminué pour autant
- si la quantité de CH<sub>4</sub> produite est plus faible par le biais du compostage, un autre gaz à effet de serre, le N<sub>2</sub>O, l'est en plus grande quantité que l'élevage sur lisier. (RAPPEL : potentiel de réchauffement planétaire : CH<sub>4</sub>=23 x celui du CO<sub>2</sub> / N<sub>2</sub>O= 296 x celui du CO<sub>2</sub>)

D'autre part, il faut ajouter le problème de la disponibilité en intrants sous forme de bran de scie ou de paille. (Juteau, 2003)

→ *Principe du compostage et neutralisation des agents pathogènes :*

Le stockage du fumier résultant de l'élevage sur litière fait appel au processus de compostage. En effet, de nombreux micro-organismes non pathogènes transforment la matière organique complexe (cellulose, lignine...) en composés simples. Cette décomposition et minéralisation du fumier implique des réactions d'oxydations et nécessite de l'oxygène. De ces réactions résultent une montée en température du tas de fumier le transformant progressivement en compost. (CTAHR, 1998)

Cependant, pour ne pas que l'oxygène soit le facteur limitant de ce processus d'humification et obtenir ainsi un « bon compost », il est nécessaire d'aérer le tas de fumier régulièrement.

Ces réactions d'oxydations et de dégradation des éléments organiques complexes permettent également de « neutraliser » les agents pathogènes potentiellement présents du fait de la **montée en température** du tas de fumier.

Le nombre de micro-organismes impliqués dans ce processus de décomposition est considérable. A l'inverse, la population en agents pathogènes du tas de fumier est comparativement faible. Il en résulte une **compétition dans l'utilisation des nutriments** en défaveur des derniers. D'autre part, les agents pathogènes, pour la plupart, ne dégradent que des molécules simples (alcools, acides organiques et sucres) laissant les composés complexes (lignine, cellulose et composés humiques) pour les micro-organismes humificateurs. Le métabolisme et la croissance des pathogènes sont limités par la proportion des molécules qu'ils peuvent dégrader.

Enfin des **mécanismes de prédatons** par ces micro-organismes contribuent aussi à la réduction du nombre d'agents pathogènes.

→ Importance de l'aération en cours de compostage

Pour améliorer l'efficacité du compostage, une aération mécanique du tas de compostage améliore notablement l'effet délétère sur *Escherichia coli* O157:H7. Kudva et al. (1998) cité par Patriquin, (2000) ont ainsi retrouvé *Escherichia coli* O157:H7 dans du compost ovin et bovin non aéré plus d'un an après la création du tas alors que sur du compost aéré ils ne retrouvent plus *Escherichia coli* O157:H7 après 4 mois pour le fumier ovin et 47 jours pour le fumier bovin. Les auteurs suspectent l'**effet additionnel du séchage** qui intervient lors de l'aération des tas de compost puisqu'ils n'ont jamais retrouvé *Escherichia coli* O157:H7 sur les surface sèche de compost, et ce, quel que soit le tas.

Or un mauvais compostage (insuffisamment fréquemment retourné) peut aboutir à la survie d'une population bactérienne non négligeable, entre autre des bactéries pathogènes car la diminution de l'oxygène, le pH et l'humidité du compost leur redeviennent favorables. (Islam et al., 2004)

### 3.2. A la recherche d'indicateurs de pollution bactériologique

Pour évaluer la contamination bactériologique soit d'un effluent d'élevage, soit de l'eau à une des étapes de son traitement de potabilisation, on peut rechercher et dénombrer :

- directement les agents pathogènes
- indirectement des groupes bactériens indicateurs

Quelle que soit les micro-organismes recherchés, c'est une diminution de population microbienne qui sera attendue. Pour l'observer et l'analyser, le calcul de la réduction logarithmique en base de 10 ( $\text{Log}_{10}$ ) est une méthode classiquement utilisée pour affirmer l'efficacité « anti-microbienne » d'un procédé de traitement des effluents. (Chinivasagam et al., 2003)

On calcule ainsi les « D value » ou « temps nécessaire pour réduire une population donnée d'un  $\text{log}_{10}$  soit de 90 % », ce qui permet de mesurer la vitesse de réduction initiale.

Mais la réduction de la population bactérienne n'est pas linéaire. Il peut être alors utile de mesurer le temps nécessaire pour ne plus détecter la bactérie introduite. Cela permet d'avoir la certitude d'une « quasi » élimination des pathogènes mais cela peut exagérer le temps nécessaire et suffisant pour réduire la population bactérienne en dessous d'un « seuil acceptable ».

→ Recherche directe d'agents pathogènes

Bien qu'il s'agisse de la méthode la plus fiable, la recherche directe est une méthode difficile et coûteuse de par la multiplicité des manipulations de laboratoire.

*Exemple d'application de la recherche directe :*

En appliquant en Nouvelle-Zélande la recherche de *Campylobacter* par PCR et par culture sur 42 échantillons d'eau de rivières, Savill et al. (2003) constatent qu'il y a 37% d'échantillons de positifs supplémentaires avec la méthode PCR. Une application de la méthode PCR sur 96 échantillons d'eau supplémentaires donne une idée de la prévalence de la contamination en *Campylobacter* :

- 60 % des échantillons d'eau de rivière
- 29,2 % de l'eau du robinet

Bien que *Campylobacter* soit présent dans l'eau du robinet traitée, les niveaux détectés sont bas.

→ *Choix d'un indicateur*

« **Si la concentration de l'indicateur est faible**, alors il est statistiquement probable que celle des agents pathogènes le soit aussi ».

Pour renforcer cette corrélation, il est nécessaire d'opter pour un « bon indicateur ».

En cherchant ce marqueur de contamination, on doit vérifier qu'il... :

- est simple et peu coûteux de le rechercher et de le dénombrer
- est libéré dans les effluents par tous les animaux
- est présent dans les fèces en quantité suffisante
- présente une stabilité dans l'environnement au moins aussi grande que le plus résistant des pathogènes

→ *Dénombrements de coliformes et d'entérocoques :*

La réduction du nombre de bactéries coliformes fécales et d'entérocoques peut servir d'indicateur de la réduction de la population de bactéries potentiellement pathogènes. (Larsen et al., 1994 ; Heinonen-Tanski et al., 1998)

Comparativement aux dénombrements des salmonelles, ceux des bactéries coliformes et des entérocoques sont plus aisés à réaliser. (Heinonen-Tanski et al., 1998)

Les **coliformes** présentent l'avantage d'avoir de **nombreuses similarités physiologiques avec les salmonelles** expliquant des capacités de survie similaires.

Cependant, la destruction des coliformes fécaux n'est pas toujours synonyme de destruction de tous les pathogènes puisque certains d'entre eux sont plus résistants que les coliformes fécaux aux conditions environnementales. (Juteau, 2003)

Les **entérocoques** présenteraient l'avantage d'avoir une **meilleure marge de sécurité que les coliformes**. (Larsen et al., 1994)

Une des raisons serait leur **plus grande résistance que les salmonelles à l'aération** du lisier. (Heinonen-Tanski et al., 1998)

Pour s'assurer d'une **réduction suffisante du nombre de pathogènes** durant le traitement, une **baisse de 3 à 4 log<sub>10</sub>** de la population **d'entérocoques** devrait être vérifiée, ce qui correspondrait à une **concentration maximale d'entérocoques** dans les matières traitées **de l'ordre de 10<sup>2</sup> cfu/mL**. (Larsen HE et al., 1994)

**Chandler et al. (1981)** ont analysé la réduction des populations de coliformes fécaux après épandage. En fonction des dénombrements suivant les épandages ils calculent le temps nécessaire pour réduire la population de coliformes (T<sub>90</sub>) d'un log<sub>10</sub> et constatent qu'il faut entre 7 et 20 jours pour obtenir un abattement de 90 % des coliformes fécaux. La largeur de cet intervalle résulte des différents taux d'épandage appliqués (de 125 à 1000 kg d'N par hectare).

→ *Calcul des ratios de coliformes fécaux et de streptocoques fécaux :*

Un calcul du ratio des coliformes fécaux (CF) et des streptocoques fécaux (SF) permet de différencier les sources de pollution humaine et porcine.

Ainsi, on constate que le ratio CF/SF des eaux d'égout municipales est constamment supérieur à celui des effluents de porcherie.

Un autre moyen d'identifier l'origine de la pollution est de calculer un ratio d'entérocoques :

$(\text{Enterococcus durans} + \text{Enterococcus hirae}) / (\text{Enterococcus faecalis} + \text{Enterococcus faecium})$ . (Chou et al., 2004)

Ce dernier ratio avoisine 0,90 pour des eaux d'égout d'origine humaine et 5,55 pour les effluents porcins.

D'autre part, quand on évalue ces 2 ratios (CF/SF et entérocoques) pour des eaux de rivières à Taiwan, on constate que les 2 ratios représentent bien les distributions de densité humaine et porcine.

→ *Les Teschovirus (Jiménez-Clavero et al., 2003) :*

Les Teschovirus infectent **spécifiquement les porcs** et sont rejetés dans les fèces. Leur présence dans l'eau indiquerait ainsi une contamination de l'eau par des résidus de fèces porcins.

Les Teschovirus sont responsables chez le porc de la maladie nerveuse de Teschen-Talfan. Mais les Teschovirus sont généralement non pathogènes et les infections demeurent inapparentes.

Pour pouvoir affirmer que les Teschovirus peuvent être utilisé comme marqueur de contamination fécale porcine, une équipe espagnole de l'INIA (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria) a développé une méthode faisant appel à la Reverse Transcriptase PCR et dont la limite de détection est de 92 fg d'ARN de Teschovirus par mL d'échantillon.

Pour vérifier la spécificité, le test a été appliqué aux fèces d'autres espèces (bovine, ovine et caprine) et a été à chaque fois négatif.

Puis ils ont recherché le marqueur dans l'eau d'une rivière recevant les « eaux d'égout » d'une ferme porcine. Ils ont ainsi pu détecter la contamination fécale porcine dans le cours d'eau jusqu'à 3000 mètres en aval de la contamination.

Cependant, cette étude ne fait pas part de la prévalence de ce marqueur au sein de l'espèce porcine. Pour que ce test puisse être utilisé, il conviendrait que celle-ci soit proche de... 100 %

## CONCLUSION

L'étude bibliographique a permis de recueillir des données sur les dangers bactériologiques pouvant être rencontrés dans les effluents de porcherie.

La réglementation impose aux éleveurs des règles de gestion des effluents d'élevages. Cependant, elles demeurent accablées sur la problématique « azote ».

Les connaissances des dangers sanitaires que peuvent présenter les effluents d'élevage sont disparates et bien moins étendues qu'elles ne le sont pour d'autres problématiques environnementales telles que les nitrates ou le phosphore.

Néanmoins, on peut distinguer des dangers bactériologiques « majeurs » pour les effluents d'élevage et des dangers bactériologiques « mineurs ».

Les dangers bactériologiques « majeurs » sont au nombre de 3 :

- *Escherichia coli* entérohémorragiques : la clinique chez l'homme est sévère (SHU) mais la prévalence chez l'espèce porcine des souches vérotoxino-gènes est faible ;
- les Salmonelles : la clinique est moins sévère mais à ce jour on ne dispose pas de données sur la prévalence des salmonelles dans les rejets porcins en France mais ;
- les Campylobacters : souvent impliqués dans les contaminations de circuit d'eau potable. *Campylobacter jejuni* est responsable de plus des trois quarts de campylobactériose chez l'Homme mais 98 % des souches de campylobacters isolées chez le porc appartiennent à l'espèce *Campylobacter coli*.

La partie suivante de la présente thèse, partie expérimentale, expose les résultats d'une action de recherche s'inscrivant dans un programme de recherche européen nommé « Green Piggery », programme qui fera l'objet au préalable d'une présentation.

*Etude  
Expérimentale*





Si la bibliographie et la synthèse des articles, des revues et des études sur le sujet « Maîtrise de la sécurité bactériologique des effluents de porcherie » permettent d'appréhender le problème de la sécurité bactériologique sur un vaste champ d'exploration, le recoupage des informations et des références et l'absence d'homogénéité dans les méthodes et les techniques utilisées ne facilite pas les « inter » comparaisons de ces différentes études.

Une approche expérimentale du problème se doit de permettre non seulement d'apporter des éléments supplémentaires à la synthèse bibliographique sans rajouter au problème d'inter-comparaison des études mais également apporter des réponses quant aux interrogations demeurant sur le sujet. (Comment explorer les groupes bactériens dominants des effluents porcins ? Quelle est l'évolution des différentes populations bactériennes au cours du stockage des effluents ? Quelles sont les différences d'évolution de ces populations entre les schémas « lisier » et « litière » ?)

Dans cette partie expérimentale, deux approches seront utilisées :

→ **L'approche moléculaire** qui permet un **suivi global de la flore microbienne sans préjugé**, un suivi de groupes microbiens particuliers, la mise en évidence d'émergence de populations au cours du stockage.

→ **L'approche culturale** qui permet d'obtenir des mesures de groupes connus, de bactéries servant d'indicateurs fécaux et de pathogènes potentiels.

Mais avant de développer ces deux approches, leur mise en œuvre et leur résultat, il convient de rappeler le contexte ayant abouti à la mise en place de cette étude.

# 1. Cadre de l'étude expérimentale

## 1.1. Le programme européen « Green Piggery »

L'élevage porcin pâtit d'une image de pollueur des campagnes et des eaux. La production porcine se doit de trouver des méthodes de production optimisées ou alternatives permettant de satisfaire à un niveau d'exigence environnemental élevé. C'est l'une des conditions essentielles d'une production porcine durable.

Si la plupart des élevages porcins n'ont pas de soucis avec les exigences réglementaires environnementales, une part des élevages peine à les respecter, notamment par le manque de surfaces suffisantes pour l'épandage.

Deux organismes de recherche européens, le WUR des Pays-Bas (Wageningen Universiteit & Research centrum) et l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA) français, ont établi un accord cadre de coopération en 2001 afin de favoriser des rapprochements pluridisciplinaires des équipes de recherche des deux organismes. Deux programmes de recherche ont ainsi été lancés.

L'un des deux programmes de recherche, nommé « Green Piggery » (Porcherie Verte) a pour but de comparer deux modes de production, l'un dit « conventionnel », l'autre dit « vert ».

## **1.2. Le Groupement d'Intérêt Scientifique « Porcherie Verte »**

Dans le cadre de ce programme de recherche, en octobre 2001, plus de 17 organismes partenaires français se sont réunis au travers d'un Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) : le GIS « Porcherie Verte ».

Ce programme fait appel à des compétences diverses développe différentes études et sujets de recherche organisés en cinq thèmes :

- Environnement et conduite d'élevage
- Environnement et gestion des effluents
- Evaluation de la compétitivité de la production porcine face aux évolutions du contexte socio-économique national et international
- Méthodes de caractérisation environnementale de la production porcine selon différents systèmes d'élevage
- Mesure des impacts environnementaux des systèmes de production porcine

Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME)

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA)

Arvalis - Institut du végétal

Association pour le Développement Agro-Environnemental du Sud-Ouest et de la Vallée de l'Adour (ADAESO)

Chambre Régionale d'Agriculture de Bretagne (CRAB)

Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes (ENSAR)

Eaux et Rivières de Bretagne

Fédération Nationale des Coopérations Bétail et Viande (FNCBV)

Fédération Nationale Porcine (FNP)

Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)

Institut de recherche pour l'ingénierie de l'agriculture et de l'environnement (CEMAGREF)

Institut Technique du Porc (ITP)

INZO (Groupe In Vivo)

Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et des Affaires Rurales (MAPAAR)

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable (MEDD)

Office National Interprofessionnel des Viandes, de l'Elevage et de l'Aviculture (OFIVAL)

Réseau d'Agriculture Durable (RAD).

### **1.3. Dynamique des écosystèmes microbiens et survie des pathogènes dans les effluents porcins**

Le GIS « Porcherie Verte » répartit les études en actions de recherche au sein de quatre groupes :

- Groupe « Contexte » ;
- Groupe « Conduite d'élevage » ;
- Groupe « Gestion des effluents » ;
- Groupe « Système de production et méthodes ».

L'action « Dynamique des écosystèmes microbiens et survie des pathogènes dans les effluents d'élevage », ayant pour responsable P. Dabert de l'Institut National de Recherche Agronomique, se situe dans le Groupe « Gestion des effluents ».

L'importance de cette action de recherche est indéniable puisque la microbiologie des effluents se trouve au confluent des problèmes environnementaux occasionnés. (cf. FIGURE)

En effet, ce sont les microorganismes des effluents d'élevage qui, en conditionnant la décomposition de la Matière Organique, vont influencer sur l'importance des différents impacts environnementaux :

l'élimination de l'azote sous forme minérale ou ammoniacale

la formation de phosphates

l'émission d'odeurs et de gaz à effet de serre (CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O)

la survie d'agents pathogènes dans les effluents.

Un « Suivi de la communauté microbienne d'effluents porcins » s'inscrit dans le cadre de cette action et mobilise différents acteurs de différents organismes :

- H. Brugère et M. Kérourédan de l'UMR INRA / Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
- P. Dabert du Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement (LBE) de l'INRA de Narbonne
- P. Peu du Cemagref
- A.M. Pourcher de l'Université d'Angers
- G. Meynaud de l'Association Sanitaire Midi-Pyrénées Porcs (ASAMIP)

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Choix des élevages

#### 2.1.1. Elevage sur caillebotis

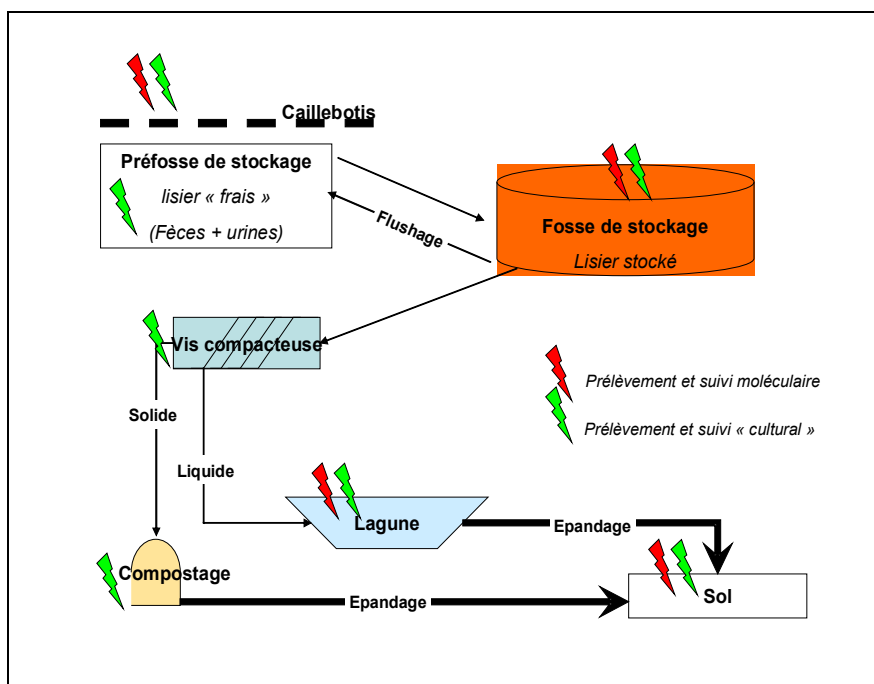
La ferme choisie est un élevage Naisseur-Engraisseur de 220 truies Large-White produisant 4500 porcs par an. Etant donné que la production d'un porc charcutier génère la production d'un mètre cube environ de lisier, l'exploitation en produit 4500 mètres cubes.

Les fèces et les urines s'écoulent dans des préfosse sous les animaux et le lisier en résultant chemine par gravité vers une fosse de stockage couverte et homogénéisée d'une capacité de 800 mètres cubes.

Un système de flushage assure une recirculation du lisier entre la fosse de stockage et le bâtiment tous les 15 jours environ. Chaque semaine une partie du lisier stocké est tamisé à l'aide d'une vis compacteuse. La fraction solide est stockée dans un bâtiment, la fraction liquide l'est dans une lagune à ciel ouvert ; toutes deux en attente d'épandage.

Il est à noter que dans les pratiques d'épandage de l'élevage, non seulement les fractions solide et liquide sont épandus mais le contenu préalable des fosses de stockage est lui aussi sujet à épandage.

Figure 11 : Schéma de la filière lisier dans l'élevage sur caillebotis choisi pour la réalisation de prélèvements et le suivi bactériologique dans le temps



## **2.1.2. Elevage sur litière**

**Trois élevages d'engraissement ont été choisies que l'on appellera pour la suite de l'étude élevages A, B et C produisant environ 1500 porcs par an et utilisant de la sciure de bois blanc (essentiellement du sapin) comme litière.**

Tous ont la même gestion des litières : ils déposent la litière propre en début d'engraissement et ne la retire qu'en fin de bande. Durant la période où les animaux sont présents, les éleveurs surveillent l'évolution de la litière et rajoutent parfois de la litière propre (parfois de la paille) par dessus lorsqu'ils estiment que la litière est saturée en humidité. Aucun n'effectue de retournement de litière en cours de bande.

Lorsque les animaux sont partis, ils procèdent au curage. Le fumier qui en découle est, selon la période de l'année et les besoins des cultures, soit stocké en bordure d'un champ, soit épandu directement sur les terres.

## **2.2. Réalisation des prélèvements**

Un élevage sur caillebotis et 3 élevages sur litière ont fait l'objet de prélèvements.

### **2.2.1. Elevage sur caillebotis**

La figure ci-dessus répertorie les prélèvements aux principales étapes de la filière lisier.

Ainsi, des échantillons ont été réalisés :

- sur les caillebotis (fèces) ;
- dans la préfosse (lisier frais) ;
- dans la fosse de stockage (lisier stocké) : prélevé à l'aide d'une canne de prélèvement directement après homogénéisation pendant une heure ;
- à la sortie de la vis compacteuse (solide frais) ;
- dans la lagune : échantillonnage effectué lors de sa vidange avant épandage ;
- en surface du sol : prélevé à l'aide d'un « plantoir à bulbe » (10cm x 5) avant et après épandage sur les quinze premiers centimètres en cinq points différents et mélangés.

Au total, ce sont 54 prélèvements qui ont été réalisés à différents niveaux de la filière lisier sur la période allant de décembre 2002 à juin 2003.

### **2.2.2. Elevage sur litière**

Quatre types d'échantillons ont été réalisés :

- des prélèvements de sciure propre ;
- des prélèvements des fèces porcins frais ;
- des prélèvements de litière : deux bandes ont été prélevées dans chacun des trois élevages, à chaque fois les prélèvements ont été effectués au même endroit, à une vingtaine de centimètres de profondeur ;
- des prélèvements de compost : les prélèvements ont été effectués au même endroit sur le tas de fumier, à une cinquantaine de centimètres de profondeurs.

Au total, ce sont 40 prélèvements qui ont été réalisés à différents niveaux de la filière litière sur la période allant de mars 2005 à juin 2005.

## 2.3. Méthodes d'analyse

Pour chaque **prélèvement de lisier**, une recherche des populations microbiennes dominantes est réalisée par **PCR-SSCP**.

En parallèle, un **suivi des indicateurs de contamination fécale** et de germes pathogènes est effectué par technique culturale.

Pour **les** prélèvements de litière, **seuls les résultats de la** technique culturale **seront abordés dans cette partie** ; la méthode moléculaire étant encore à ce jour en attente de réalisation sur ces prélèvements.

### 2.3.1. Technique moléculaire

#### 2.3.1.1. Principe de la PCR-SSCP

(Polymerase Chain Reaction - Single Strand Conformation

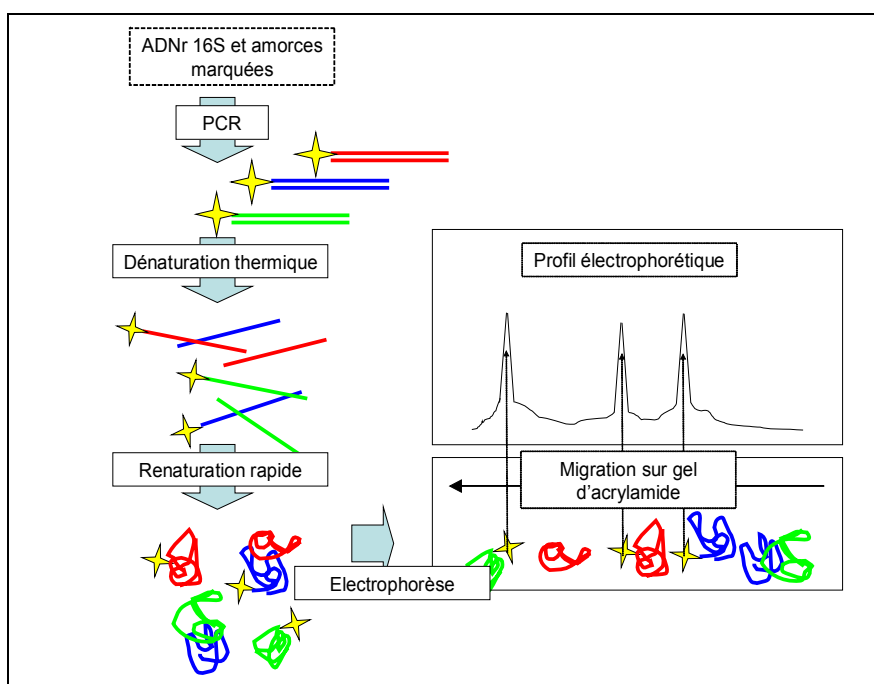
Polymorphism)

La PCR-SSCP associe l'amplification d'Acide Désoxyribo Nucléique (ADN) par polymérisation en chaîne (PCR) à une séparation des simple-brins complémentaires d'ADN par électrophorèse en gel de polyacrylamide non dénaturant (électrophorèse SSCP).

Il s'en suit une **migration différentielle fonction de la structure tertiaire de l'ADN monocaténaire**. Cette structure tertiaire résulte de l'hybridation du brin d'ADN sur lui-même, elle-même fonction de la séquence des bases.

L'électrophorèse SSCP permet donc de **séparer des fragments d'ADN de même taille mais de séquence différente**.

Figure 12 : Principe de la PCR-SSCP





### 2.3.1.2. Application à l'étude

La PCR-SSCP appliquée à l'étude se base sur la détection du gène codant pour les ARN ribosomiques 16S (ARNr 16S) que l'on appellera ADNr 16S.

En effet, on aura des variations de séquences ADN plus ou moins importantes selon le degré de parenté des microorganismes, et ce plus particulièrement dans une région du gène ADNr 16S appelée « région variable V3 ».

La première étape consiste à extraire l'ADN des microorganismes. Pour cela, ces derniers sont lysés et leurs chromosomes sont purifiés.

Puis, une première étape de polymérisation en chaîne de la région variable V3 des ADNr 16S est réalisée à partir d'amorces Eubactéries universelles (W34 et W49) pour l'analyse de la communauté bactérienne totale. L'amorce W34 est marquée à son extrémité 5' par un fluorophore (fluoroscéine phosphoramidite, TET).

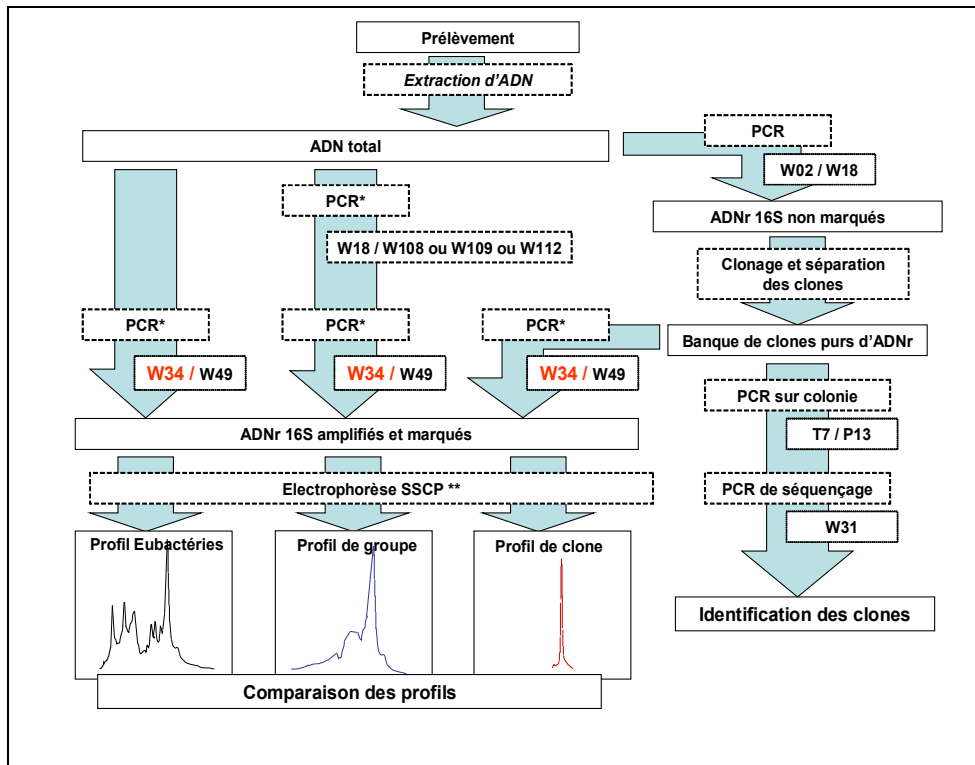
Pour l'analyse d'un groupe bactérien plus restreint, on fait précéder cette PCR d'une autre PCR avec une amorce spécifique (W108, W109, W112, cf. Tableau 30) de ce groupe bactérien couplée à une amorce « universelle » au domaine Bacteria (W18, cf. Figure 13).

**Tableau 30** : Séquences et cibles des différentes amorces utilisées dans l'étude

Amorce	Séquence*	Cible
W02	5'-GNTACCTTGTTACGACTT-3'	ADNr 16S universel Godon et al., 1997
W18	5'-GAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'	ADNr 16S domaine <i>Bacteria</i> Godon et al., 1997
W31	5'-TACCGCGGCTGCTGGCAC-3'	ADNr 16S universel / région V3
W34	TET-5'-TTACCGCGCTGCTGGCAC-3'	ADNr 16S universel
W49	5'-ACGGTCCAGACTCCTACGGG-3'	ADNr 16S domaine <i>Bacteria</i>
W108	5'-ATTYCACCGCTACACATG-3'	ADNr 16S <i>Bacillus</i> – <i>Streptococcus</i> - <i>Lactobacillus</i> Heilig et al., 2002
W109	5'-TTACTGGGTGTAAAGGG-3'	ADNr 16S <i>Eubacterium</i> - <i>Clostridium</i> Van Dyke et Mc Carthy, 2002
T7	5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3'	ADN plasmidique Godon et al., 1997
P13	5'-GACCATGATTACGCCAA-3'	ADN plasmidique Godon et al., 1997
W112	5'-TCACCGTTGCCGGCGTACTC-3'	ADNr 16S <i>Cytophaga</i> - <i>Flexibacter</i> - <i>Bacteroides</i> Wood et al., 1998

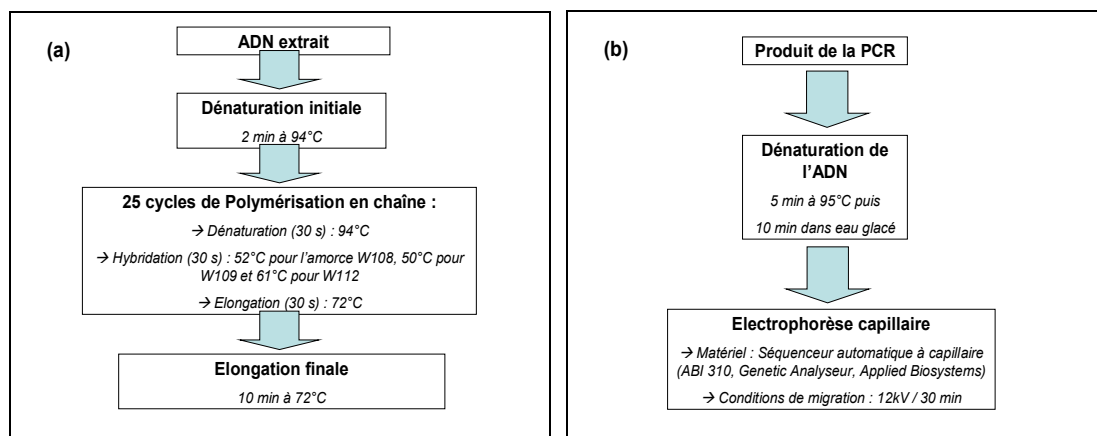
\* N=A/T/G/C Y=T/C M=A/C

**Figure 13** : Application de la PCR-SSCP à l'étude



\* et \*\* : détails des étapes dans les figures ci-dessous

Figures 14 a et b : Détails des étapes de PCR (a) et de l'électrophorèse SSCP (b)



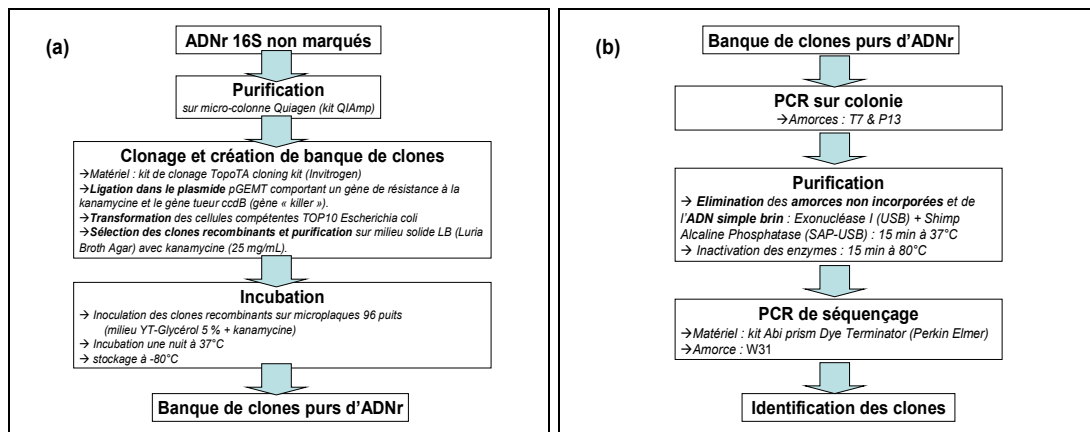
### 2.3.1.3. Identification par séquençage et analyse phylogénétique

Après une première PCR réalisée avec les amorces W02 et W18, les produits de la PCR sont purifiés, et insérés par ligation dans un plasmide. Les cellules compétentes TOP10 *Escherichia coli* ont été transformées et les clones recombinants ont été sélectionnés, purifiés, inoculés en microplaques, incubés et stockés à -80°C (cf. Figure 15a).

Une seconde PCR est appliquée aux colonies de clones de recombinants frais ou stockés à l'aide des amorces plasmidiques T7 et P13. Puis, les produits de la PCR sont purifiés afin d'éliminer les amorces non incorporées et les fragments d'ADN simples brins. (cf. Figure 15b)

La troisième PCR, PCR de séquençage (cf. Figure 15b), permet d'établir les séquences partielles d'environ 500 bp (position 103 à 623 chez *E. coli*) à partir des clones. Elles ont été comparées entre elles et avec les séquences présentes dans les bases de données Genbank et EMBL grâce au logiciel BLAST (National Center for Biotechnology Information, NCBI) et la Ribosomal Database Project (RDP-II) afin de déterminer la famille, le genre ou la bactérie la plus proche phylogénétiquement.

Figure 15 a et b : Constructions des banques d'ADNr 16S (a) et séquençage (b)



## 2.3.2. Technique culturale

### 2.3.2.1. Préparation des prélèvements avant mise en culture

Après réception des prélèvements en laboratoire, une **dilution au 1/2** dans du diluant tryptone-sel est réalisée. Cet échantillon est agité plusieurs minutes puis lui-même dilué au 1/5 (40g dans 160 ml de diluant tryptone).

On obtient ainsi une **dilution au dixième ( $10^{-1}$ )**.

Cette solution est transférée en totalité dans un sac stomacher avec filtre et homogénéisée pendant 5 minutes.

Le filtrat en résultant est utilisé pour la réalisation de dilutions décimales (1 ml dans 9 ml de diluant tryptone) permettant d'obtenir des dilutions  **$10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-7}$** .

### 2.3.2.2. Mise en culture

#### 2.3.2.2.1. Entérobactéries, *Escherichia coli*, entérocoques

Après la préparation des dilutions décimales ( $10^{-1}$  à  $10^{-7}$ ), différents milieux (cf. Tableau 31) sont ensemencés par 1mL (pour les entérobactéries et *Escherichia coli*) ou 0.1mL (pour les entérocoques).

**Tableau 31** : Mise en culture et isolement des entérobactéries, des *Escherichia coli* et des entérocoques

Bactéries	Milieu de culture	Incubation	Aspect des colonies
Entérobactéries	Pétrifilm Entérobactéries (3M 9064201)	24 heures à 37°C	rouges entourées d'un halo jaune et/ou associées à des bulles de gaz
<i>Escherichia coli</i>	Pétrifilm Sélect coli (3 M 9064341)	24 heures à 44°C	bleues
Coliformes Totaux	Pétrifilm coliformes (3 M 6410)	24 heures à 32°C	rouges associées à des bulles de gaz
Entérocoques	Gélose à la kanamycine esculine azoture (Oxoid CM0591B + SR0092E)	36 heures à 37°C	entourées d'un halo noir

### 2.3.2.2.1. Salmonelles et *Listeria*

A partir des solutions au demi et de milieu de culture spécifique (cf. Tableau 32), une solution au 1/10 est préparée.

Ces solutions sont utilisées pour ensemercer des plaques de 12 puits en réalisant des dilutions successives dans les milieux spécifiques (au 1/5 pour les salmonelles au 1/10 pour *Listeria*) (cf. Figure 16).

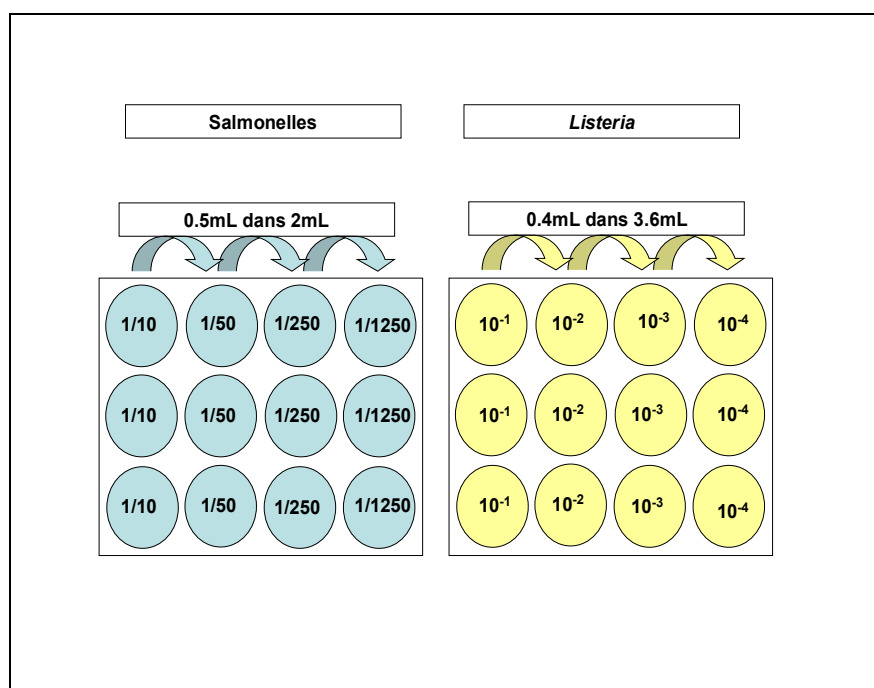
Après incubation des plaques (24h à 42°C pour les salmonelles, 24h à 32°C pour *Listeria*), un ensemencement sur gélose est réalisé (cf. Tableau 32).

L'identification du type bactérien des colonies est vérifiée sur galerie API sur cinq colonies typiques.

**Tableau 32** : Mise en culture et isolement des salmonelles et des *Listeria*

Bactéries	Volume de solution au demi	Milieu de culture	Incubation	Isolement	Aspect des colonies
Salmonelles	1/10 40 mL de solution au demi + 160 mL de milieu de culture	Rappaport vassiliadis	24 h à 42°	Gélose Rambach 24 h à 37°	fuschia
<i>Listeria</i>	1/10 20 mL de solution au demi + 80 mL de milieu de culture	bouillon FRASER (Humeau 747.0331170.02 )	24 h à 32°	Gélose CHROMagar <i>Listeria</i> ( Humeau 260.011010.02 ) 24 h à 37°	bleue entourée d'un halo blanc

**Figure 16** : Ensemencement des plaques de 12 puits



## 3. Résultats

### **3.1. Analyse de la communauté bactérienne du lisier par la méthode moléculaire**

#### **3.1.1. Suivi de la communauté des Eubactéries du lisier**

##### **3.1.1.1. Présentation des profils Eubactéries**

Les amorces ciblant les Eubactéries permettent de « révéler » tous les grands groupes bactériens excepté celui des Archées.

La figure suivante nous présente le profil électrophorétique SSCP obtenu à l'aide de ces amorces Eubactéries à différents stades de la filière lisier. On parlera de **profil Eubactéries** ou **profil « bactéries totales »**.

Sur chacun de ces profils, chaque pic correspond à une espèce bactérienne dont la proportion relative dans le lisier est représentée par la hauteur de ce pic.

Dans les figures suivantes, les pics sont identifiés par des flèches et sont nommés par la lettre E (Eubactérie) et un nombre allant de 1 à 28 attribué selon leur ordre d'apparition sur le profil « bactéries totales » du lisier de la fosse du 16.12.02.

L'alignement des profils de la communauté bactérienne totale à différents stades de la filière (cf. Figure 17) et l'étude de ces pics permet de « d'affirmer » ou non la présence de groupes bactériens prédominants. Ces derniers peuvent :

- Disparaître : « effacement » de pics au fil des différents stades du lisier
- Persister : « continuité » des pics
- Apparaître : « apparition » de nouveaux pics

### 3.1.1.2. Suivi des profils Eubactéries sur la filière lisier

Si la forme générale des profils est plus ou moins « patatoïde », le fait majeur qui ressort à la première observation des profils n'en demeure pas moins leur complexité.

En effet, les « pics » sont nombreux mais peu d'entre eux sont bien individualisés. Ceci caractérise ainsi le milieu **lisier** en **un milieu présentant une grande diversité** microbienne.

Un pic (pic E6) persiste et demeure dominant tout au long de la filière lisier depuis les fèces jusqu'à la lagune caractérisant une forte concentration de la population bactérienne correspondante.

En examinant ces profils, on remarque une **stabilité relative de la flore dominante du lisier dans la fosse de stockage**, voire dans la lagune.

**Les modifications des profils** au fil du temps du lisier sont **notables** essentiellement **lors de passage d'une étape de la filière à l'autre**.

→ *Passage des fèces au lisier :*

Le profil électrophorétique du lisier se différencie de celui des fèces par son allure moins « patatoïde » et par un nombre plus important de pics individualisés.

Le **profil** « bactéries totales » du lisier prélevé dans la **fosse évolue peu au cours du temps** et seuls trois nouveaux pics apparaissent sur le profil du 24.03.2003 (cf. flèche rouge inversés de la figure 17).

De nombreux pics du profil « bactéries totales » des fèces co-migrent avec des pics des profils du lisier. Sur la figure 17 quelques uns de ces pics communs sont identifiés au dessus du profil « bactéries totales » des fèces (E2, E3, E6, E10, E16, E20, et E28).

→ *Passage du lisier de la fosse à la lagune :*

Le **passage** de la fraction liquide du lisier **de la fosse de stockage à la lagune** s'accompagne d'une **modification sensible du profil** électrophorétique avec pour les pics de populations bactériennes majoritaires une moindre importance de leur nombre (cf. flèches pleines de la FIGURE) mais une individualisation plus marquée. Ainsi, la lagune semble présenter une **diversité apparente réduite**.

On note également la part croissante de 2 populations bactériennes correspondants aux pics 25 et 26 du lisier puisque la hauteur des pics respectifs double de hauteur entre la fosse et la lagune.

→ *Passage de la lagune à l'épandage sur sol :*

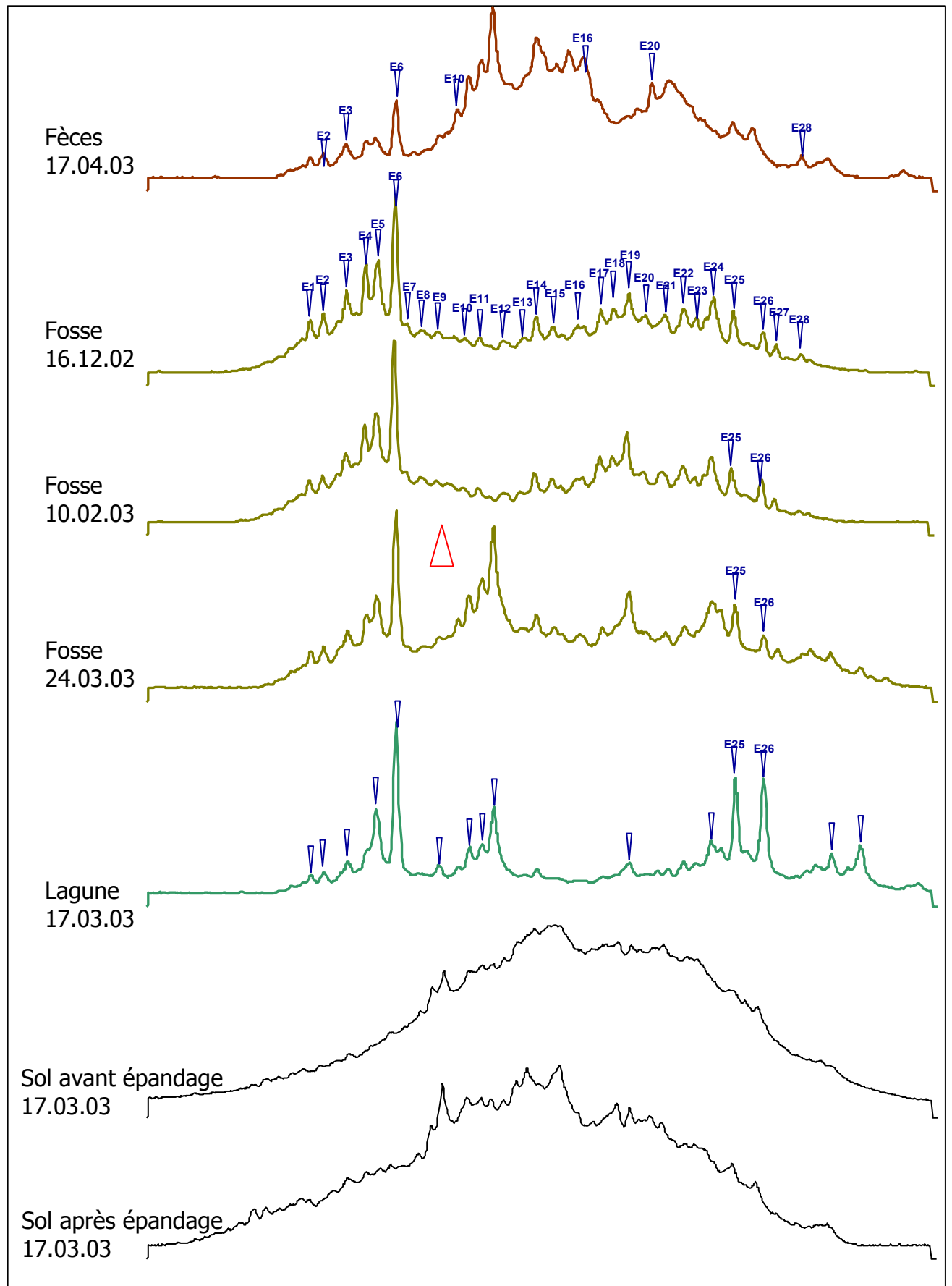
Le **profil du sol** ne présente **pas de différence avant ou après épandage** et semble être celui qui présente la forme « patatoïde » la plus poussée : l'absence de pic majoritaire décelable dans les profils du sol est caractéristique d'une diversité telle **qu'aucun groupe bactérien ne semble prédominer**.

Enfin, on constate l'**absence de pics modifications des profils** électrophorétiques **du sol** avant et après épandage.

**Il ne semble donc pas y avoir d'impact visible de l'épandage sur la flore du sol.**



Figure 17 : Suivi de la communauté des Eubactéries du lisier le long de la filière d'élevage par PCR-SSCP.



## 3.1.2. Suivi des groupes microbiens majoritaires du lisier

### 3.1.2.1. Présentation des profils des groupes spécifiques

Afin de faciliter l'interprétation des profils électrophorétiques et l'identification des pics, un « découpage » des profils a été réalisé en utilisant des amorces spécifiques de groupe utilisées dans l'étude (cf. 2.3.1.) ciblant un des trois groupes microbiens majoritaires suivants :

- *Clostridiaceae* (*Eubacterium* et *Clostridium*)
- *Cytophaga* – *Flexibacter* – *Bacteroides* (CFB)
- *Bacillus* – *Streptococcus* – *Lactobacillus* (BSL)

La Figure 18 permet de comparer le profil Eubactéries du lisier aux profils des groupes spécifiques.

Sur chacun de ces profils, chaque pic correspond à une espèce bactérienne dont la proportion relative dans le lisier est représentée par la hauteur de ce pic.

De même que précédemment, les pics sont identifiés dans cette figure par des flèches et sont nommés par la lettre E (Eubactérie) et un nombre allant de 1 à 28.

Les figures suivantes permettent de comparer les profils des groupes spécifiques des fèces et du lisier.

### 3.1.2.1. Comparaison du profil Eubactéries du lisier aux profils des groupes spécifiques

Le « découpage » du profil Eubactéries du lisier échantillonné le 16.12.2002 en trois profils de groupes spécifiques (cf. Figure 18) et l'alignement de ces derniers autorise une première constatation : **chacun des trois groupes étudiés bénéficie d'une « mobilité électrophorétique » qui lui est propre.**

En effet, le profil électrophorétique montre une **apparition individualisée des trois groupes** : *Clostridiaceae* (occupant la gauche du profil), *Cytophaga* – *Flexibacter* – *Bacteroides* (au centre) et *Bacillus* – *Streptococcus* – *Lactobacillus* (à droite).

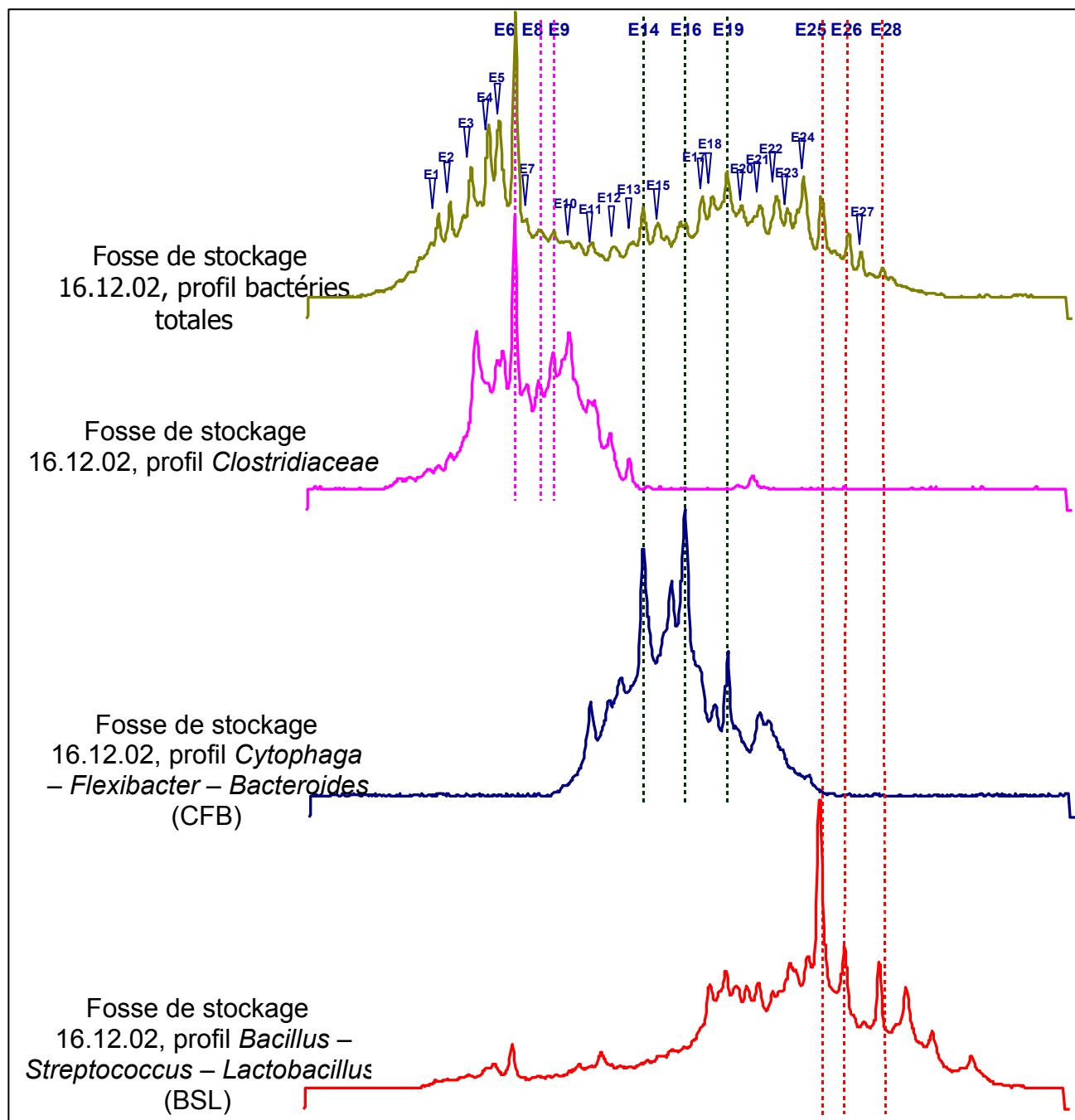
De ce fait, l'identification des populations des pics en est facilitée.

Ainsi, plusieurs pics du profil Eubactéries peuvent être rattachés à des pics des profils de groupe (cf. Figure 18 et Tableau 33). L'identification des populations microbiennes des pics dominants a été permise par le séquençage et l'analyse phylogénétique des clones (cf. 2.3.1.).

Exceptions faites des pics E14 et E28, ces pics « communs » ont été identifiés comme fortement homologues à des microorganismes déjà détectés dans la flore fécale ou le lisier de porc.

Un seul (E28) a pour plus proche voisin un microorganisme cultivé.

**Figure 18** : Comparaison du profil Eubactéries (bactéries totales) du lisier aux profils des groupes spécifiques.



**Tableau 33** : Identification des pics communs au profil des Eubactéries et aux profils de groupe *N.D.* : ( *Non Déterminé* )

Pics du profil Eubactéries	Séquence la plus proche		
	Identification	% d'homologie	Origine
E6	<i>Clostridium butyricum</i> AY147280	99	Lisier
E8	<i>Clostridium viride</i> AF371793	95	Tube digestif de porc
E9	<i>Clostridium viride</i> AF371786	98	Tube digestif de porc
E14	<i>Prevotella</i> sp. AY005062	98	Cavité buccale humaine
E16	<i>Bacteroidales</i> AF371910	98	Tube digestif de porc
E19	<i>Bacteroidales</i> AF371910	96	Tube digestif de porc
E25	<i>Streptococcus</i> AF445231	100	Lisier
E26	Non identifié	N.D.	N.D.
E28	<i>Lactobacillus iners</i> Y16329	95	Source humaine

### 3.1.2.2. Suivi des profils des groupes microbiens majoritaires sur la filière

On retrouve dans les profils de groupe (cf. Figures 19, 20 et 21) les observations majeures établies précédemment à partir des résultats du suivi des profils Eubactéries :

→ **Peu voire pas d'évolution** notables **au cours du stockage** : les modifications des profils s'observent essentiellement lors de passage d'une étape de la filière à l'autre (fèces à fosse et fosse à lagune)

→ A l'image du profil « bactéries totales », les profils des trois groupes bactériens étudiés présentent une **diversité importante**

→ Dans chacun des trois groupes, **des pics dominants perdurent le long de la filière lisier**, des fèces jusque dans la lagune.

On remarque pour le groupe CFB (cf. Figure 20) l'apparition d'un pic dans le lisier devenant rapidement très dominant (pic C) (identification : uncult. *Bacteroides.*, AF371910)

Le Tableau 34 ci-dessous reprend ces microorganismes dominants pour chacun des trois groupes après identification par séquençage et analyse phylogénétique (cf. 2.3.1.).

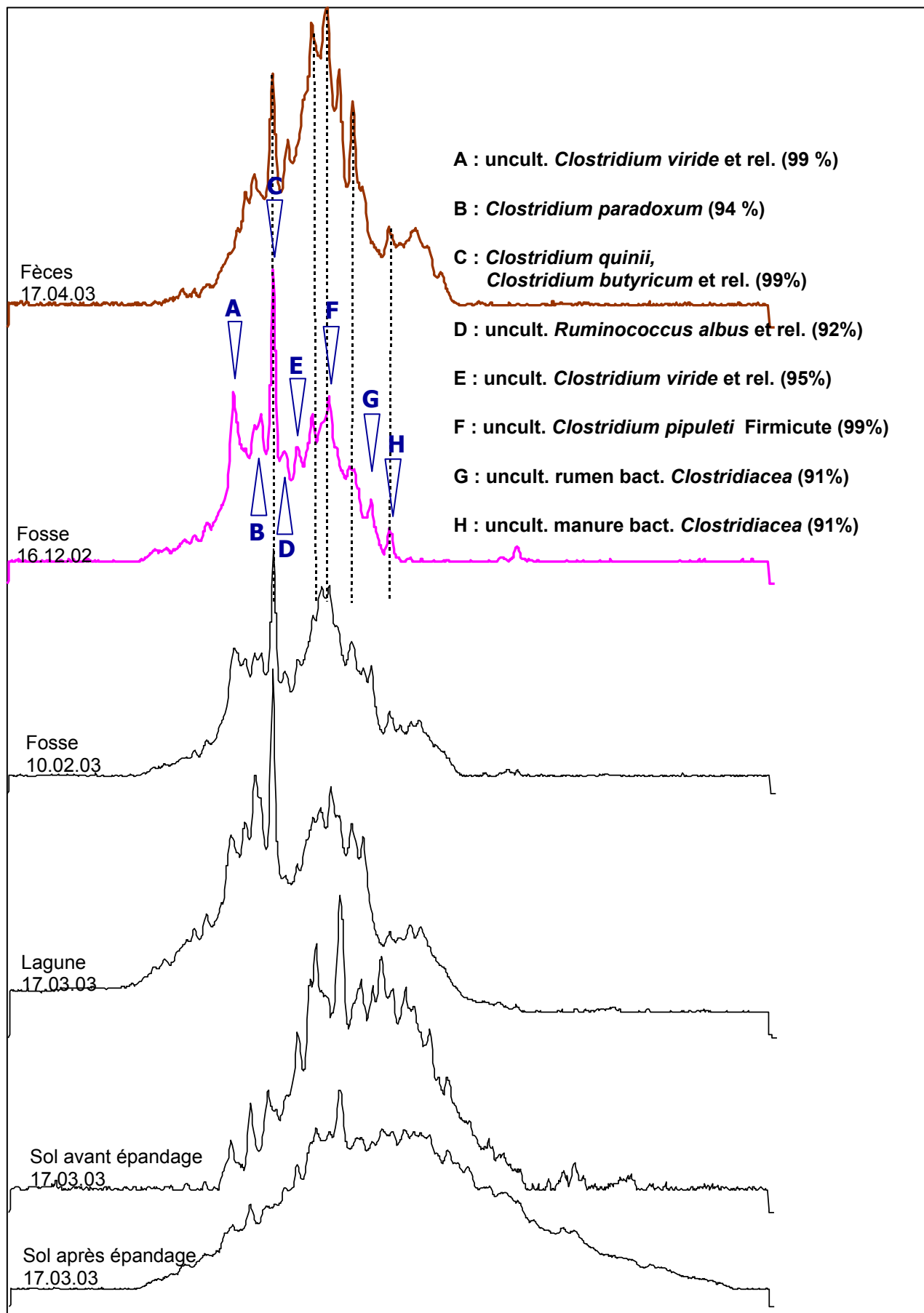
**Tableau 34** : Microorganismes dominants des groupes *Clostridiaceae*, CFB et BSL persistant le long de la filière lisier depuis les fèces jusqu'à la lagune

Groupe	Identification	Pic du profil Eubactéries correspondant	% d'homologie	Origine
<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium butyricum</i> (AY147280)	E6	99	Lisier
<i>Cytophaga</i> – <i>Flexibacter</i> – <i>Bacteroides</i> (CFB)	<i>Prevotella</i> sp. (AY005062)	E14	98	Cavité buccale humaine
<i>Bacillus</i> – <i>Streptococcus</i> – <i>Lactobacillus</i> (BSL)	<i>Streptococcus</i> (AF445231)	E25	100	Lisier

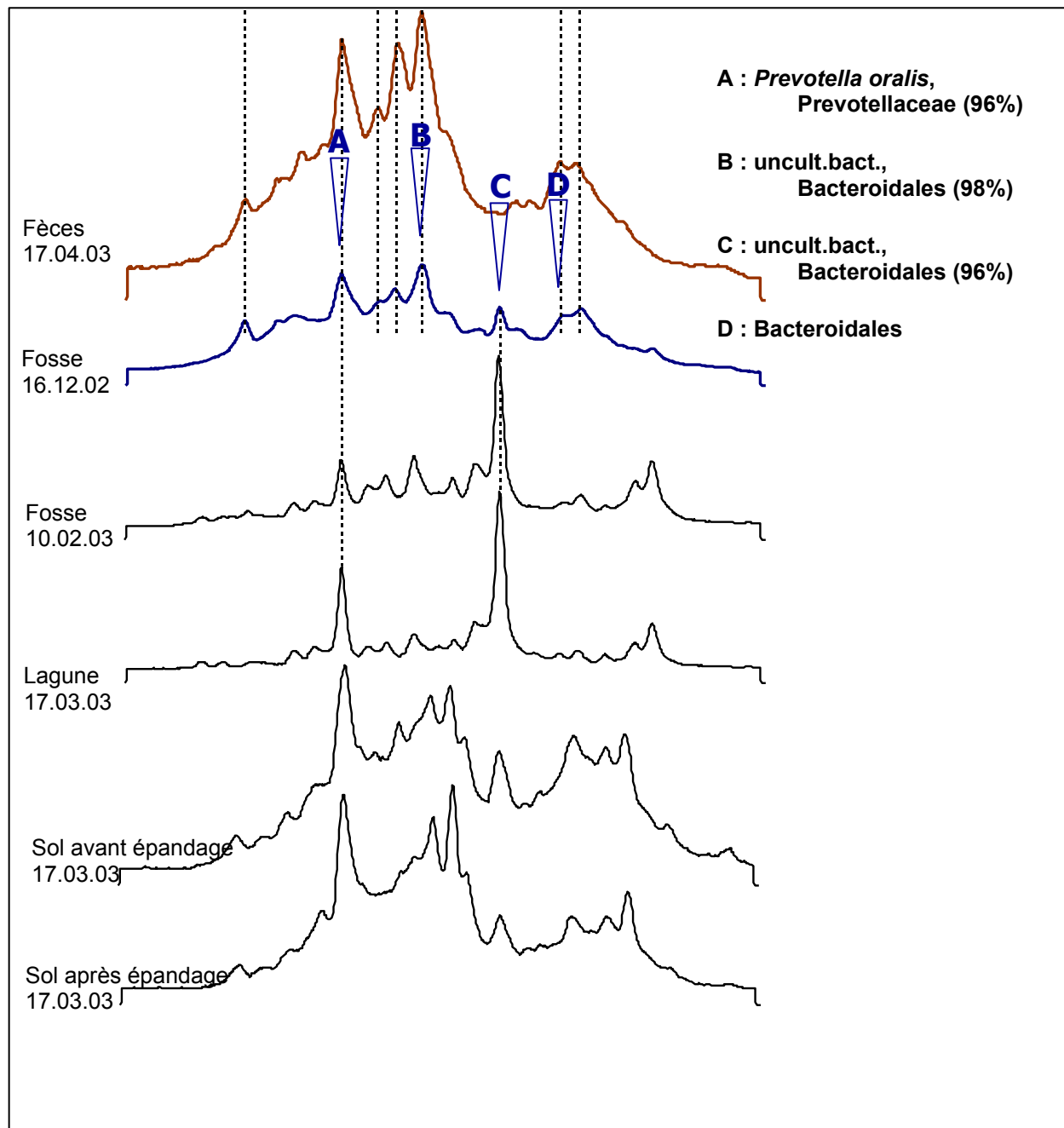
→ **Pas d'impact** visible **de l'épandage sur la flore du sol** (absence de modifications des profils du sol). Aucun des pics dominants n'a pu être détecté dans le sol après épandage.

Pour le groupe BSL (cf. Figure 21), un pic provenant du lisier (pic D) co-migre avec un pic du sol avant épandage mais ce dernier a été identifié comme une bactérie lactique du sol très éloigné du pic D.

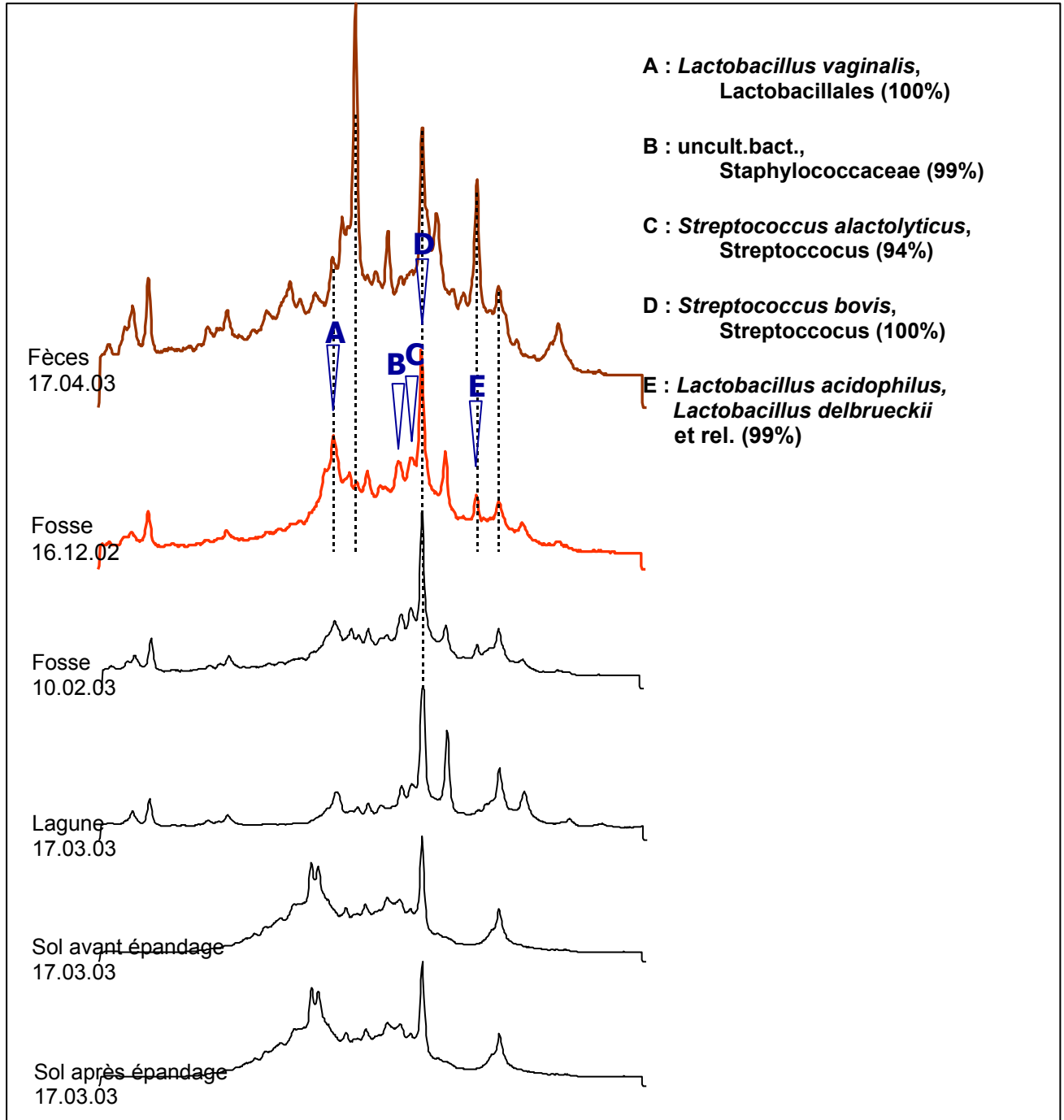
**Figure 19** : Comparaison des profils *Clostridiaceae* des fèces, du lisier et du sol.



**Figure 20** : Comparaison des profils *Cytophaga* – *Flexibacter* – *Bacteroides* des fèces, du lisier et du sol.



**Figure 21** : Comparaison des profils *Bacillus* – *Streptococcus* – *Lactobacillus* des fèces, du lisier et du sol.



## **3.2. Suivi bactériologique des effluents porcins par la technique culturale**

### **3.2.1. Présentation des résultats**

Sur chaque prélèvement réalisé (lisier, sol avant et après épandage, litière, compost...), la recherche des bactéries indicatrices (entérobactéries, coliformes, *Escherichia coli*, et entérocoques) et des pathogènes potentiels suivants : Salmonelles et de *Listeria monocytogenes*.

Les résultats des comptages ont été normalisés en Colonies Formant Unité (cfu) par gramme de matière sèche (MS) ou en Nombre le Plus Probable.

Dans les pages suivantes, l'analyse des résultats s'appuiera sur des histogrammes établis à partir des données des tableaux de résultats des dénombrements.

Dans les histogrammes suivants, les résultats inférieurs au seuil de détection des techniques culturales n'ont pas été affichés. Ainsi, **l'absence de certaines barres dans les histogrammes** ne doit donc pas être **interprété** comme l'absence des bactéries correspondantes dans le prélèvement mais **comme une limite de ces techniques culturales** quant à la détection de ces bactéries.



## 3.2.2. Suivi bactériologique du lisier

### 3.2.2.1. Suivi des bactéries indicatrices : entérobactéries, coliformes et entérocoques

→ Des fèces à la lagune :

On retrouve dans les résultats obtenus par la méthode culturale l'observation faite avec la méthode moléculaire : **la flore microbienne** dans la préfosse et **dans la fosse présente une stabilité relative dans le temps.**

En effet, **les numérations des indicateurs fécaux** des préfosses et de la fosse de stockage **sont stables** et atteignent des niveaux inférieurs de seulement un log10 par rapport aux numérations des fèces, reflétant la dilution des fèces avec les urines. (cf. Figure 22 a)

Ainsi, les numérations des entérobactéries dans les neuf prélèvements de la fosse de stockage effectués au cours de la période d'étude (de décembre 2002 à juin 2003) ont atteint une moyenne de  $1,4 \times 10^7$  cfu/g (7,14 log10) de MS et un écart type de  $2,5 \times 10^7$  (7.40 log10).

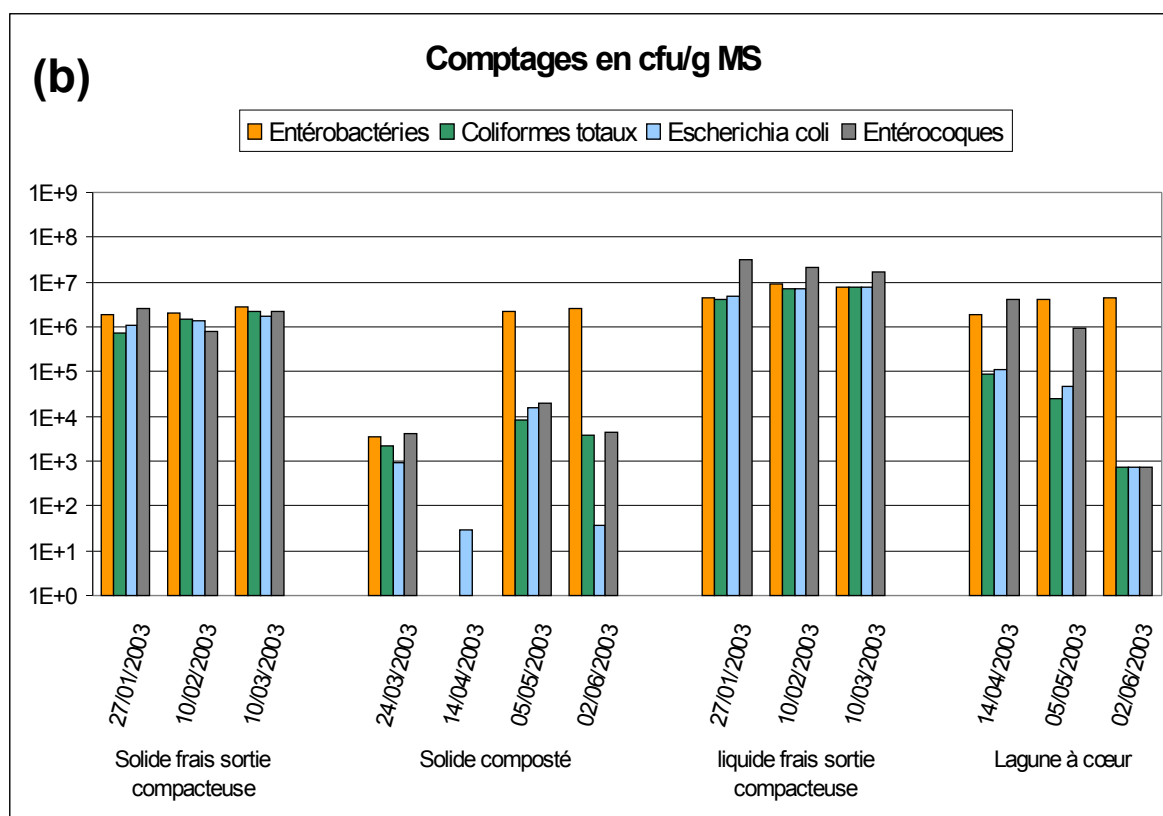
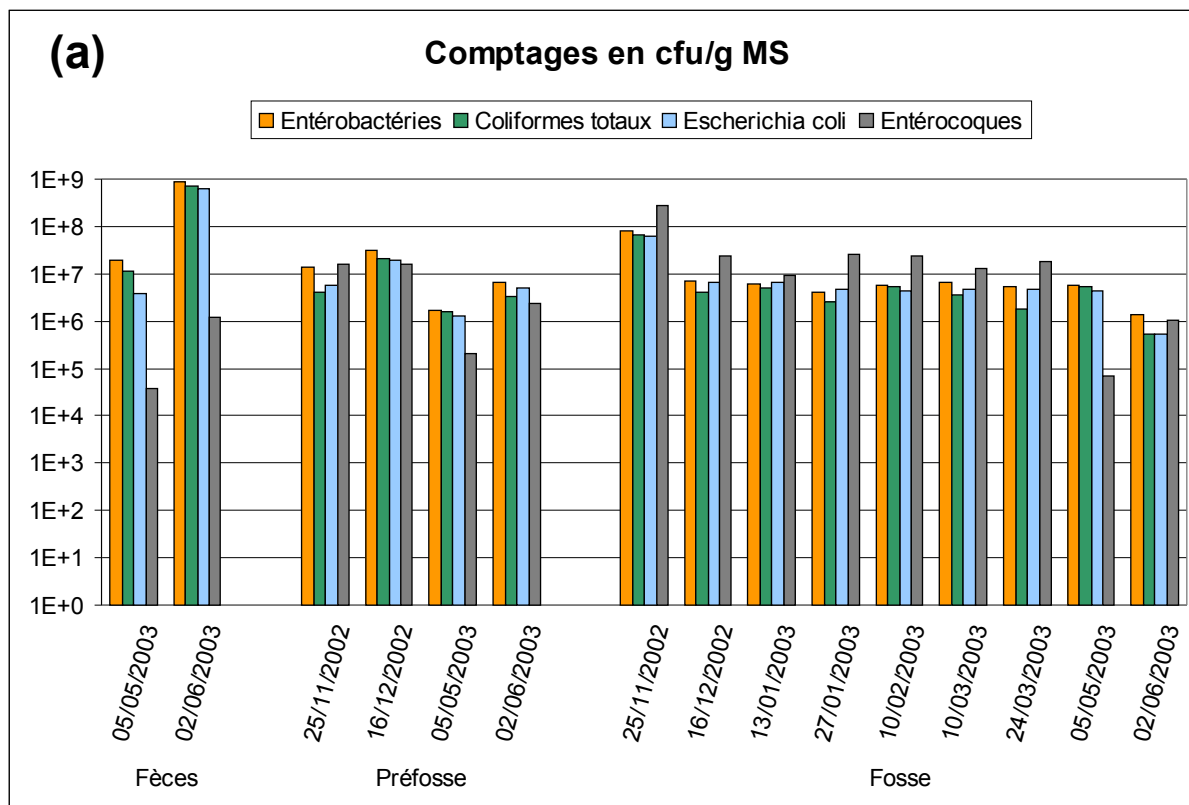
Cette constance dans le temps des numérations est à relier en parti avec l'effet du flushage qui, par retour de lisier tous les quinze jours de la fosse de stockage aux préfosses, contribue à homogénéiser les deux milieux, « fosse » et « préfosse ».

Ce flushage, de part les résidus qu'il occasionne, est probablement responsable des numérations sensiblement supérieures aux autres du prélèvement du 25/11/2002 de la fosse de stockage (cf. Figure 22 a).

De même que pour le passage de la préfosse à la fosse de stockage, on n'observe **pas d'abattement significatif des indicateurs fécaux entre l'entrée de la vis compacteuse et la fraction liquide de sortie** (cf. Figures 22 a et b).

En revanche, un **abattement « conséquent » de un à quatre log10** est réalisé **lors du compostage de la fraction solide** de la sortie de la vis compacteuse ainsi que **lors du « lagunage » de la fraction liquide** (cf. Figure 22 b).

**Figures 22 a, b et c :** Suivi chronologique des populations d'entérobactéries, de coliformes et d'entérocoques le long de la filière lisier.



→ *Epandage des lisiers de la lagune et de la fosse de stockage :*

Les capacités de stockage des lisiers et les pratiques de leur épandage adoptées par l'élevage obligent les éleveurs à épandre non seulement les produits issus du « lagunage » mais aussi les excédents de la fosse de stockage.

Le suivi bactériologique par les techniques culturales n'a **pas** permis d'établir **de différence significative avant et après épandage** (cf. Figures 23).

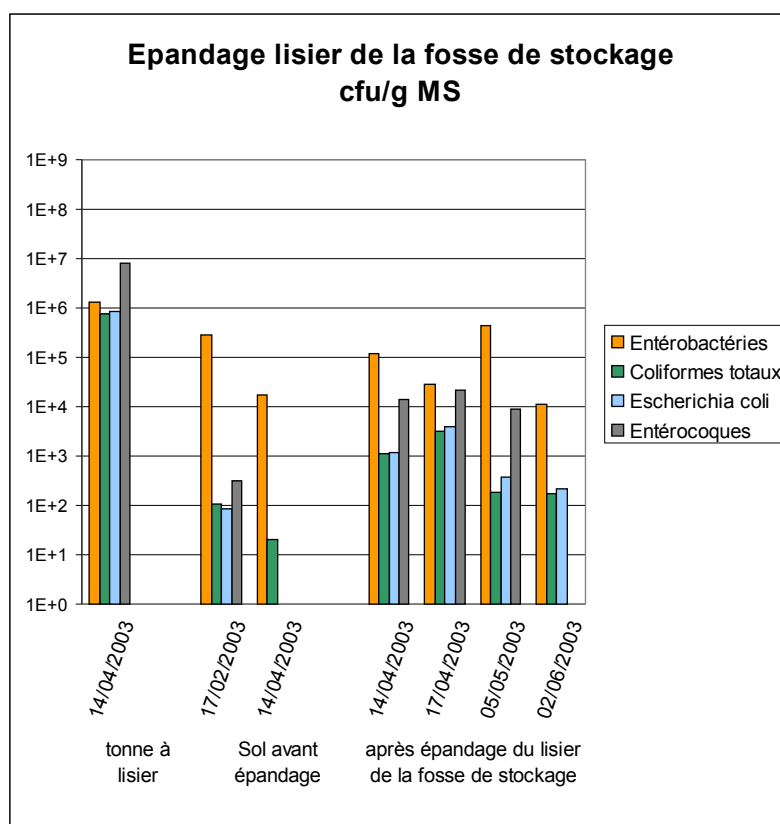
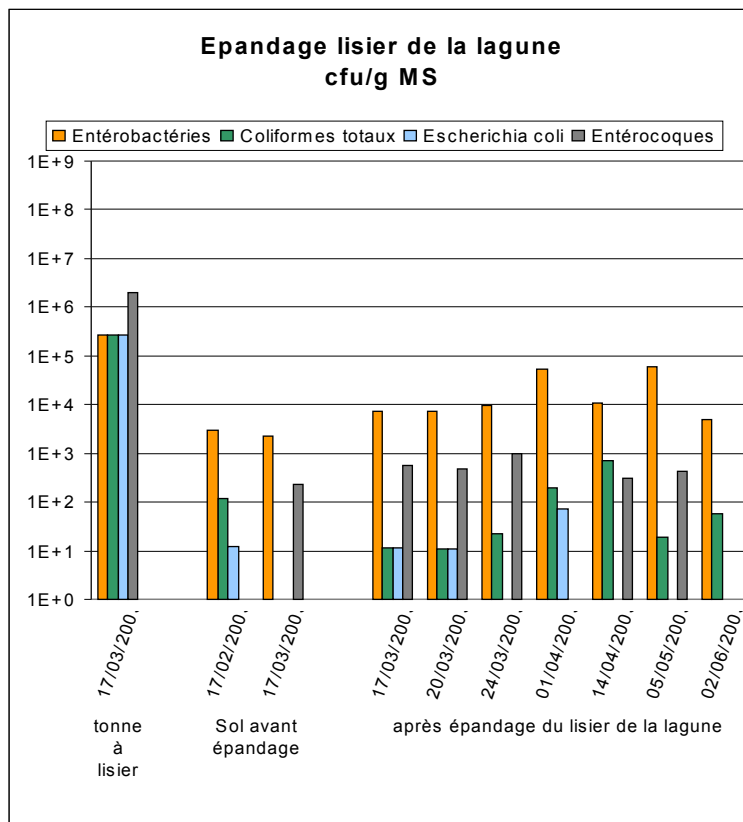
D'autre part, les numérations concomitantes comparatives avec des sols témoins non épandus (résultats non montrés ici) n'ont **pas** permis d'établir non plus **de différence significative entre sol épandu et sol non épandu**.

En comparant les histogrammes (cf. Figures 23), on ne constate **pas de différence d'impact sur le sol selon le type de lisier épandu** (lisier de la fosse de stockage ou lisier de la lagune).

Cependant les dénombrements réalisés sur les prélèvements avoisinent les seuils de détection des techniques culturales, biaisant ainsi leur interprétation (cf. barres d'histogrammes absentes ; Figures 23).

S'il est aventureux d'affirmer qu'il n'y a pas de persistance bactériennes à l'issu des épandages (limites de détection des techniques culturales), on peut en revanche constater une **non visibilité de l'impact des pratiques d'épandage sur la flore du sol**. On retrouve ainsi l'observation obtenue par la méthode moléculaire.

**Figures 23 : Suivi des entérobactéries, des coliformes et des entérocoques au cours de l'épandage du lisier de la lagune et de la fosse de stockage**



### 3.2.2.2. Suivi de pathogènes potentiels

#### 3.2.2.2.1. *Escherichia coli* et entérocoques

On remarquera la situation particulière d'*Escherichia coli* qui, servant de bactérie indicatrice, peut aussi constituer un pathogène potentiel non négligeable pour certains pathovars (cf. Partie Bibliographique ; 2.2.1.3.1.1.).

A une moindre échelle, les **entérocoques** aussi peuvent constituer des pathogènes potentiels, notamment sur les individus affaiblis.

Ce caractère pathogène peut également être aggravé par le problème de l'antibiorésistance (cf. Partie Bibliographique ; 2.2.1.3.2.4.).

#### 3.2.2.2.2. Salmonelles et *Listeria*

Dans l'histogramme suivant, on rappellera que les résultats inférieurs au seuil de détection des techniques culturales n'ont pas été affichés. Ainsi, **l'absence de certaines barres dans les histogrammes** ne doit donc pas être **interprété** comme l'absence des bactéries correspondantes dans le prélèvement mais **comme une limite de ces techniques culturales** quant à la détection de ces bactéries.

Ici, ce problème de limite de détection est particulièrement vérifié pour ces bactéries (salmonelles et *Listeria*) du fait de leurs numérations largement inférieures aux bactéries indicatrices.

Ainsi, **ce ne sont pas tant les niveaux de numérations qui seront à prendre en considération que la fréquence de détection.**

→ *Des fèces à la lagune :*

Si les salmonelles et *Listeria monocytogenes* sont souvent en limite de détection, leur **fréquence de détection est variable selon la nature du prélèvement**. En effet, les prélèvements de préfosse et de fosse de stockage dépassent le plus souvent ces seuils de détection alors qu'il n'en va pas de même pour les numérations des prélèvements fécaux ou de prélèvements à l'issu du compostage ou du lagunage (cf. Figure 24).

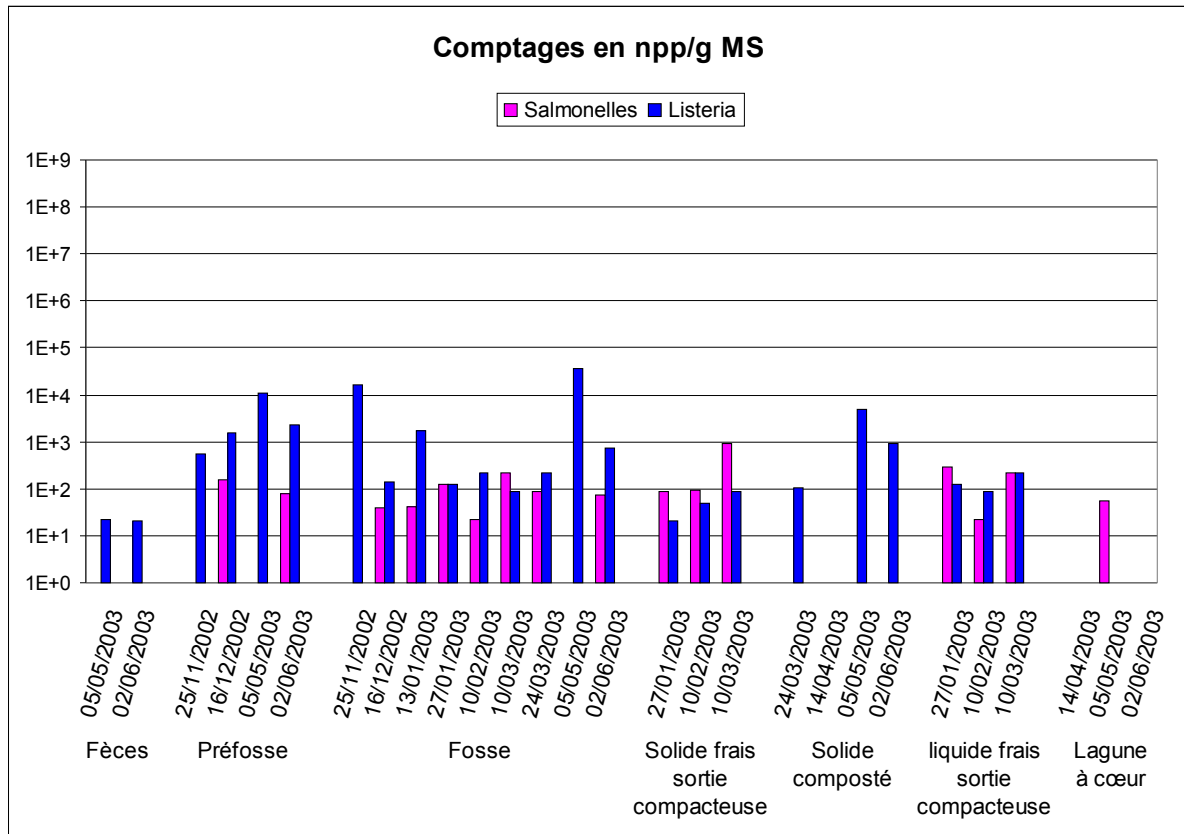
Cette plus faible fréquence de détection des deux pathogènes potentiels dans les fèces, le compostage et la lagune peut illustrer deux phénomènes :

- une multiplication de ces bactéries au cours du stockage
- une destruction de ces bactéries lors du compostage et du « lagunage ».

→ *Épandage des lisiers de la lagune et de la fosse de stockage :*

Les salmonelles et *Listeria monocytogenes* sont indétectables avant ou après épandage (résultats non présentés ici) n'autorisant pas d'interprétation autre que la non visibilité de l'impact de l'épandage sur la flore tellurique.

**Figures 24** : Suivi chronologique des populations de salmonelles et de *Listeria* le long de la filière lisier.



### 3.2.3. Suivi bactériologique du fumier

#### 3.2.3.1. Suivi des bactéries indicatrices : entérobactéries, coliformes et entérocoques

Les observations suivantes sont établies, lorsque cela n'est pas spécifiquement indiqué, par visualisation et synthèse des trois histogrammes des trois élevages suivis (cf. Figures 25).

→ *De la litière fraîche au curage du fumier en fin de bande :*

La litière fraîche apparaît peu contaminée.

La forte population bactérienne présente dans la crotte fraîche contamine la litière pour s'y répandre à des proportions similaires en début de bande.

Puis, **au fur et à mesure que la litière « vieillit »**, on constate une **diminution notable** de la population bactérienne **d'au moins un à deux log<sub>10</sub> en 5 semaines** (délai entre les 2 premiers prélèvements), les résultats variant selon les conditions physico-chimiques de la litière et les possibilités de croissance des différentes bactéries.

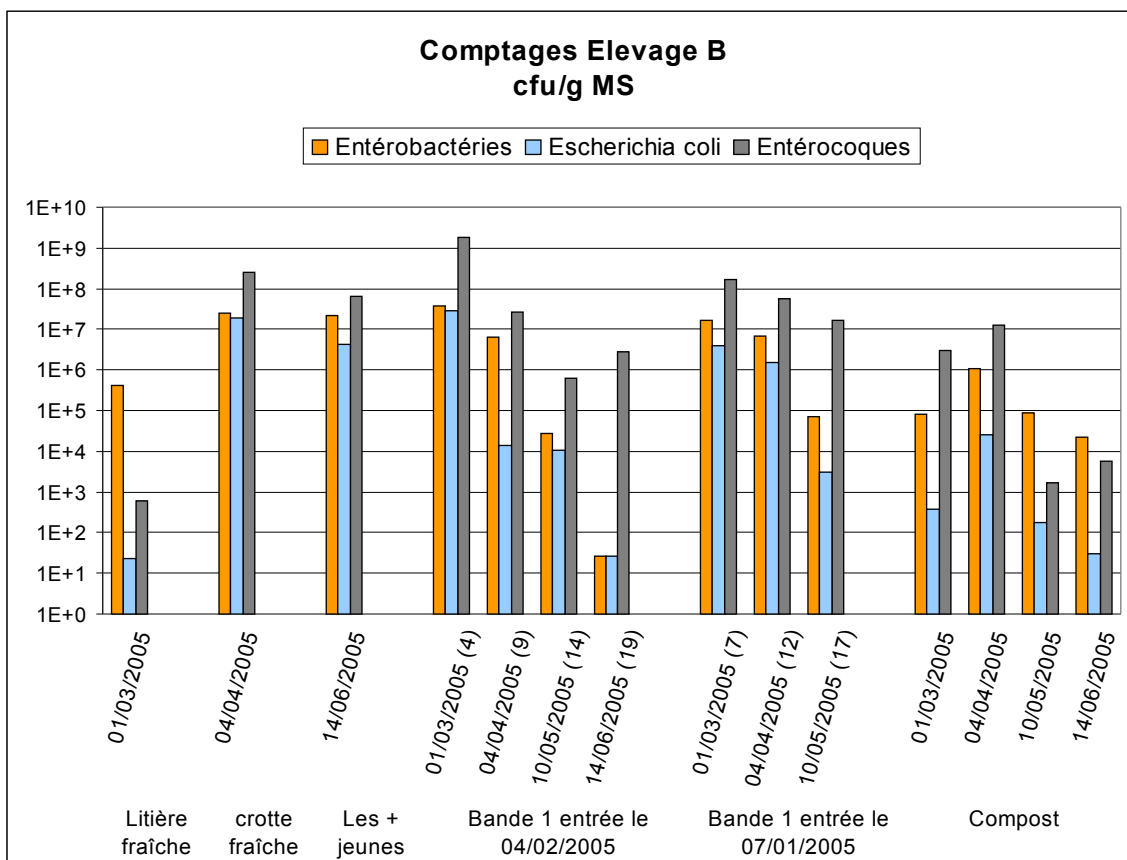
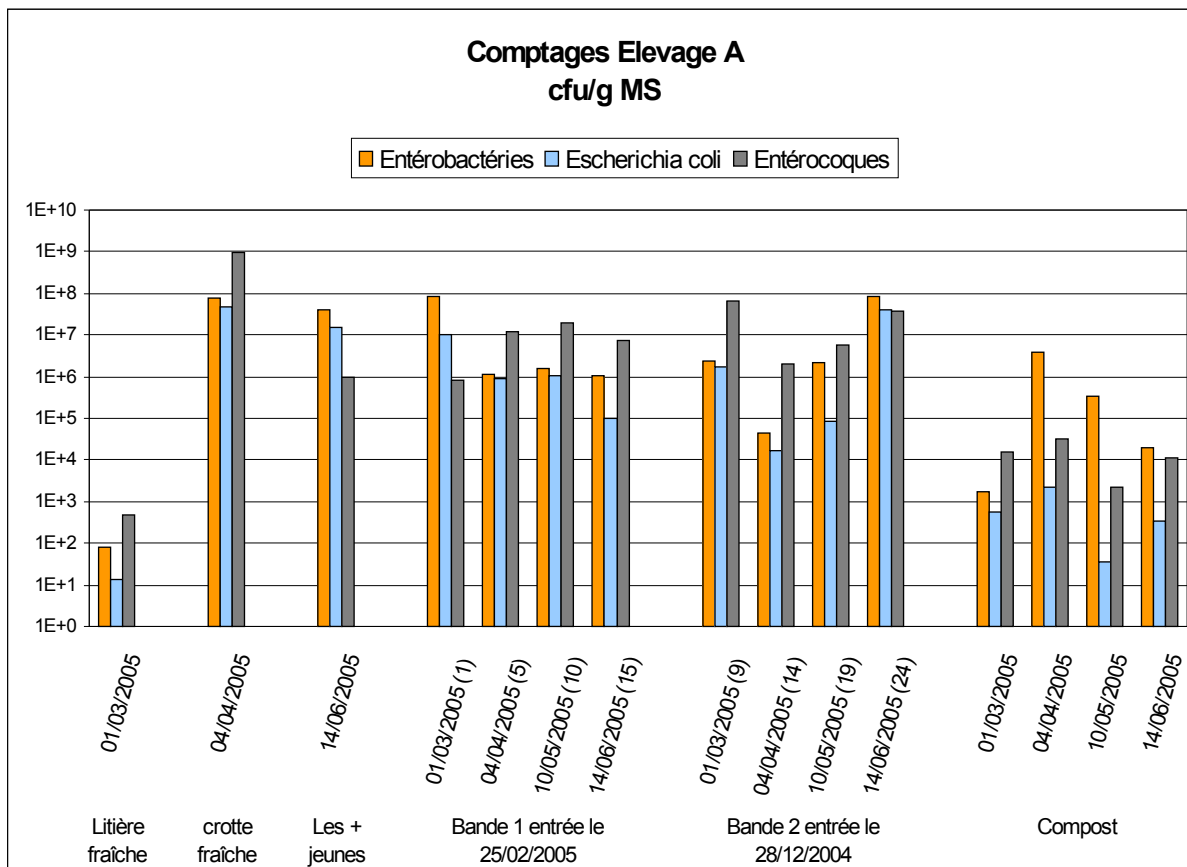
La litière évolue donc vers un milieu défavorable aux bactéries.

En fin de bande et pour 2 des 3 élevages, on constate une tendance à une remontée de la population bactérienne qui pourrait être corrélée à une saturation des capacités d'élimination de la litière.

→ *Compostage du fumier :*

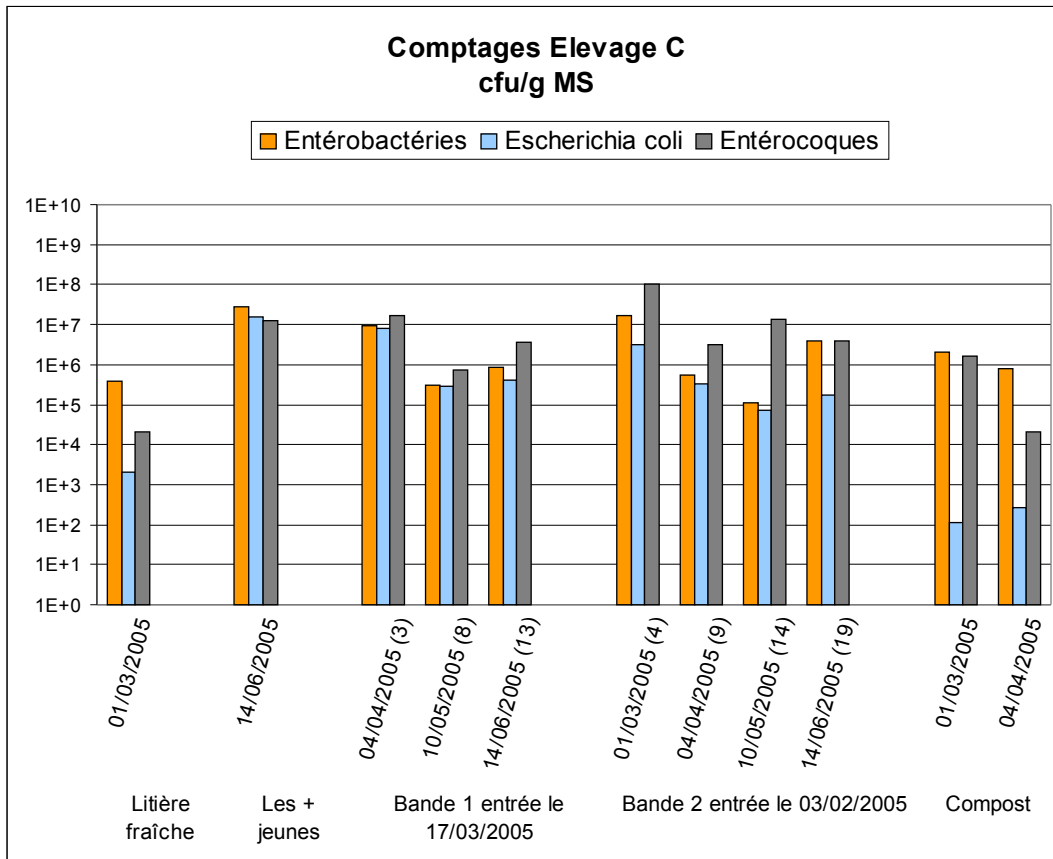
Le passage au compost permet un assainissement conséquent : au fur et à mesure de l'avancée du printemps, les comptages bactériens se rapprochent des comptages de la litière fraîche initiale.

**Figures 25 : Suivi chronologique des populations d'entérobactéries, de coliformes et d'entérocoques dans les litières des trois élevages A, B et C.**



*NB : Entre parenthèses l'âge en semaine des litières*





*NB : Entre parenthèses l'âge en semaine des litières*

### 3.2.3.2. Suivi de pathogènes potentiels

#### 3.2.3.2.1. *Escherichia coli* et entérocoques

De même que pour le lisier, on rappellera que **les *Escherichia coli* et les entérocoques** servent non seulement d'indicateurs fécaux mais peuvent aussi constituer un danger potentiel pour certains pathovars (cf. Partie Bibliographique ; ).

#### 3.2.3.2.2. Salmonelles et *Listeria*

Le problème de limite de détection des salmonelles et des *Listeria* rencontré pour les prélèvements de lisier se retrouve également dans le suivi bactériologique des litières et des fumiers par technique culturale.

Ainsi, là non plus, **ce ne sont pas tant les niveaux de numérations qui seront à prendre en considération que la fréquence de détection.**

→ *De la litière fraîche au curage du fumier en fin de bande :*

Ce **problème de limite de détection** est, **comparativement au lisier, plus important pour le suivi des élevages sur litières.** Pour illustrer ceci, on peut se référer au nombre de prélèvements ayant fait l'objet d'une détection ou non de salmonelles et/ou de *Listeria* :

- seuls **sur 4 prélèvements des 30** réalisés (fèces et litière) **a été détecté des salmonelles et/ou des *Listeria*.** (3, salmonelles et *Listeria* ; 2 *Listeria* seule).
- pour l'élevage C, sur aucun des 11 prélèvements effectués n'a pu être détecté salmonelle ou *Listeria*

→ *Compostage du fumier :*

Ce **problème de limite de détection** se rencontre jusqu'au compostage puisque au cours de l'étude, sur un seul prélèvement de compost (sur 10 effectués) a été détecté une *Listeria* (résultats non présentés ici).

**Cette plus faible fréquence de détection des deux pathogènes potentiels dans ces prélèvements comparativement au lisier peut illustrer deux phénomènes :**

- **une destruction de ces bactéries débutant dès l'accumulation de la litière et persistant jusqu'au compostage**
- **la transformation des deux pathogènes en une forme non cultivable dans la litière**

## 4. DISCUSSION

Les deux approches, culturale et moléculaire, ont permis de caractériser en partie l'évolution bactériologique des effluents depuis les fèces jusqu'à l'épandage et de comparer sur ce sujet les systèmes d'élevage sur caillebotis et sur litière.

Ces deux techniques menées de front sur chaque prélèvement se sont avérées complémentaires parce que chacune a permis de mettre en évidence des observations que l'autre technique ne permettait pas.

Cependant, les deux approches ont communément permis de réaliser un constat : les variations qualitatives et quantitatives observées au niveau de la communauté microbienne des déjections sont plus importantes entre les différentes étapes du traitement qu'elles ne le sont dans le temps sur une même étape. Ceci s'explique avant tout par les facteurs physico-chimiques présentant une stabilité dans le temps au cours d'une même étape et subissant des fortes variations lors de passages d'une étape à une autre. Ainsi, la flore microbienne du lisier évolue peu au cours du stockage.

L'approche moléculaire a permis de connaître les microorganismes dominants non cultivables issus de la flore fécale porcine et qui persistent au travers de la filière de traitement des déjections. Cependant il convient de nuancer les résultats en établissant les limites de ce système : cette approche demeure qualitative (pas de quantification) et n'autorise pas encore la détection de microorganismes sous-dominants. L'amélioration de cette approche moléculaire par l'utilisation d'amorces de groupes plus spécifiques permettra peut-être d'abaisser le seuil de détection.

L'approche culturale a permis de suivre l'évolution de groupes sous-dominants choisis soit pour leur utilisation comme indicateurs de contamination fécale, soit pour leur pouvoir pathogène potentiel. Cette méthode permet un suivi quantitatif de ces bactéries sur les filières lisier et litière.

L'élément majeur ressortant de cette approche est l'absence d'abattement clair des dénombrements des indicateurs fécaux dans le lisier au cours du stockage, probablement lié au fonctionnement en « apport continu » de lisier dans la fosse étudiée. En revanche, on observe des abattements successifs de ces indicateurs le long des filières lisier et litière.

Lorsque l'on compare les numérations de ces indicateurs dans les effluents « prêts » à être épandus (lisier de la fosse, lisier de lagune et compost de litière) on constate que les numérations par g/MS dans le compost sont plus faibles que celles des lisiers. Ainsi, on remarque une différence de un à trois  $\log_{10}$  entre le compost de litière et le lisier de la fosse de stockage selon l'indicateur fécal.

L'élevage sur litière paraît donc attractif pour l'assainissement bactériologique qu'il permet. En outre, il permet de supprimer une bonne part des nuisances et des pollutions liées au stockage et à l'épandage du lisier.

Mais il présente cependant des inconvénients essentiellement liés à sa logistique avec une augmentation du temps de travail, des difficultés d'approvisionnement en intrants carbonés et le coût de ces derniers.



# *Conclusion générale*



S'il est impossible d'affirmer qu'un effluent porcin est exempt de tout agent potentiellement pathogène, en revanche des décisions prises au niveau de l'élevage permettront de prévenir la contamination de l'Homme. Ces décisions reposent sur 3 points :

- le suivi clinique des porcs (traitement particulier des effluents issus d'animaux malades) ;
- l'assainissement bactériologique des effluents porcins (lié au stockage et à un éventuel traitement) ;
- la pratique d'un épandage respectant la réglementation et le guide de Bonnes Pratiques Agricoles.

Malgré tout, si une dissémination dans l'environnement survient, il convient de disposer de systèmes réactifs de gestion d'eau potable. La présence de filtres, la réalisation de traitements adéquats et de contrôles de qualité en station de traitement et de purification de l'eau constitue le dernier rempart avant la contamination de l'Homme par l'ingestion d'une eau contaminée.

L'élevage sur litière permet de supprimer une bonne part des nuisances et des pollutions liées au stockage et à l'épandage du lisier par le biais du compostage. Mais il présente cependant des inconvénients essentiellement liés à sa logistique avec une augmentation du temps de travail, des difficultés d'approvisionnement en intrants carbonés et le coût de ces derniers...

Pour mieux mesurer les risques sanitaires des effluents, la filière porcine doit continuer les efforts de recherche, notamment dans l'évaluation de la prévalence des principaux pathogènes dans les fèces et les effluents de porcs en France.





# *Bibliographie*



- AARESTRUP, F.M., CARSTENSEN, B.** Effect of tylosin used as a growth promoter on the occurrence of macrolide-resistant enterococci and staphylococci in pigs. *Microb Drug Resist*, 1998, **4**, 307-312.
- AVERY, S.M., MOORE, A., HUTCHISON, M.L.** Fate of *Escherichia coli* originating from livestock faeces deposited directly onto pasture. *Lett Appl Microbiol*, 2004, **38**, 5, 355-339.
- AVRAIN, L., HUMBERT, F., SANDERS, P., VERNOZY-ROZAND, C., KEMPF, I.** Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from pigs in French slaughterhouses. *Revue Méd Vét*, 2004, **155**(3), 156-158.
- BAGER, F., MADSEN, M., CHRISTENSEN, J., AARESTRUP, F.M.** Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. *Prev Vet Med*, 1997, **31**, 95-112.
- BALODA, S.B., CHRISTENSEN, L., TRAJCEVSKA, S.** Persistence of a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT12 clone in a piggery and in agricultural soil amended with Salmonella-contaminated slurry. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**, 6, 2859-2862.
- BISAILLON, J.-G., BEAUDET, R., SYLVESTRE, M., ISHAQUE, M., MORIN, A., DI FRANCO, E., GUÉRIN, A.M.** Aspects microbiologiques du lisier de porc. *Sciences et Techniques de l'Eau*, 1984, **17**, 397-400.
- BONARDI, S., BRINDANI, F., MAGGI, E.** Isolation of *Listeria monocytogenes* et *Listeria* spp. from pigs at slaughter in Italy. *Ann Fac Medic Vet di Parma*, 2002, **22**, 205-210.
- BOUVET, P., GRIMONT, P.** Données de surveillance 1999 du centre national de référence des *Salmonella* et *Shigella*. *BEH*, 2001, **12**.
- BOUVET, J., LIVRELLI, V., MARIANI-KURKDJIAN, P., OSWALD, E.** Section B : Pathologie humaine et animale liée aux STEC. Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC). Afssa, 2003.
- BRISABOIS, A., FRÉMY, S., GAUCHARD, F., MOURY, F., LAILLER, R.** Epidémiologie des Salmonelles d'origine non humaine. Données du Réseau *Salmonella* – année 2002. Afssa, *Bulletin Epidémiologique* , 2003, **10**, 5-6.
- CHANDLER, D.S., FARRAN, I., CRAVEN, J.A.** Persistence and distribution of pollution indicator bacteria on land used for disposal of piggery effluent. *Appl Environ Microbiol*, 1981, **42**(3), 453-460.
- CHINIVASAGAM, H.N., THOMAS, R.J., CASEY, K., MCGAHAN, E., GARDNER, E.A., RAFIEE, M., BLACKALL P.J.** Microbiological status of piggery effluent from 13 piggeries in the south east Queensland region of Australia. *J Appl Microbiol*, 2004 **97**, 5, 883-891.
- CHOU, C.C., LIN, Y.C., SU, J.J.** Microbial indicators for differentiation of human- and pig-sourced fecal pollution. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* , 2004, **39**(6), 1415-1421.

**CLIVER, D.O., MOE, C.L.** Prospects of waterborne viral zoonoses. Waterborne zoonoses : Identification, causes and control. World Health Organization. 2004, (15), 242-254.

**College of Tropical Agriculture and Human Resources (CTAHR)** Composted animal manures : precautions and processing. 1998.

**Comité de Santé Environnementale du Québec (CSE)** Les risques à la santé associés aux activités de production animale au Québec. Rapport scientifique pour le Ministère de la Santé et des Services Sociaux du Québec. 2000.

**COTTA, M.A., WHITEHEAD, T.R., ZELTWANGER, R.L.** Isolation, characterization and comparison of bacteria from swine faeces and manure storage pits. *Environ Microbiol*, 2003, **5**(9), 737-745.

**COURNOT, M., HEMERY, C., GALLAY, A.** Epidémie de Gastro-entérites à germes multiples liée à la consommation de l'eau de distribution. Gourdon, Lot (46). DRASS Midi-Pyrénées. CIRE Sud-Ouest. 2001.

**D'ALLAIRE, S., GOULET, L., BRODEUR, J.** Literature review on the impacts of hog production on public health. Southern Crop Protection and Food Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, London, ON, Canada. 1999.

**DEFRA (Department for Environment Food and Rural Affairs)** Zoonoses report. United Kingdom 2004.

**DELIGNETTE-MULLER, M.L., LECLERC, V., PARDON, P.** Section I : Relation dose-réponse. Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC). Afssa. 2003.

**DESHAYES, F., SCHMITT, M.** Pollution du réseau d'eau potable à Strasbourg et survenue concomitante de gastro-entérites en mai 2000. *BEH*, 2001, **02**.

**DI PALMA, M., CARBONEL, S., BEAUDEAU, P., CHECLAIR, E., GALLAY, A.** Epidémie de gastro-entérites à *Cryptosporidium* en 2001 à Dracy-le-Fort, Saône et Loire (71). DRASS de Bourgogne. CIRE Dijon. 2003.

**DIEZ, J.A., DE LA TORRE, A.I., CARTAGENA, M.C., CARBALLO, M., VALLEJO, A., MUNOZ, M.J.** Evaluation of the application of pig slurry to an experimental crop using agronomic and ecotoxicological approaches. *J Environ Qual*, 2001, **30**, 6, 2165-2172.

**DUCLUZEAU R.** Micro-organismes recombinés et écosystème bactérien du tube digestif. Propositions de programme de recherche et utilité des animaux à flore contrôlée pour estimer les risques. *CC (Courrier de l'Environnement de l'INRA)*, 1989, **6**, 3-11.

**ESPIÈ, E., HAEGHEBAERT, S., BOUVET, P., GRIMONT, F., MARIANI, P., VAILLANT, V.** Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France, 2002 et 2003. *BEH*, 2003, **42**, 203-204.

**FEDER, I., WALLACE, F.M., GRAY, J.T., FRATAMICO, P. FEDORKA-CRAY, P.J., PEARCE, R.A., CALL, J.E. PERRINE, R., LUCHANSKY, J.B.** Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from intact colon fecal samples of swine. *Emerging Infectious Disease*, 2003, 9(3), 380-384.

**GLAUS, H., HEINEMEYER, E.A.** The elimination of *Salmonella typhimurium* in coastal waters with various levels of microbiologically hygienic contamination. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, 1994, **196**, 4, 312-326.

**GOFTI-LAROCHE, L., SCHMITT, M.** Epidémie de gastro-entérites liée à la pollution du réseau de distribution d'eau potable de la commune du Divonne-les-Bains, Ain (01). DRASS Rhône Alpes. CIRE Rhône-Alpes-Auvergne. 2003.

**GUAN, T.Y., HOLLEY, R.A.** Pathogen survival in swine manure environments and transmission of human enteric illness—a review. *J Environ Qual*, 2003, **32**, 2, 383-392.

**HAEGHEBAERT, S., VAILLANT, V., ESPIÈ, E., BOUVET, P., GRIMONT, F.** Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France, 2001. *BEH*, 2003, **20**, 89-91.

**HAEGHEBAERT, S., VAILLANT, V., BOUVET, P., GRIMONT, F.** Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France, 2000. *BEH*, 2002, **29**, 145-147.

**HAEGHEBAERT, S., VAILLANT, V., DECLUDT, B., BOUVET, P., GRIMONT F.** Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France, 1998. *BEH*, 2000, **13**.

**HAEGHEBAERT, S., VAILLANT, V., BOUVET, P., GRIMONT, F.** Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France, 1999. *BEH*, 2001, **37**.

**HAMSCHER, G., SCZESNY, S., HOPER, H., NAU, H.** Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 2002, **74**, 7, 1509-1518.

**Health Canada.** Waterborne outbreak of gastroenteritis associated with a contaminated municipal water supply, Walkerton, Ontario, May–June 2000. Canadian Communicable Disease Report, **26**,170-173. 2000.

**HEINONEN-TANSKI, H., NISKANEN, E.M., SALMELA, P., LANKI, E.** *Salmonella* in animal slurry can be destroyed by aeration at low temperatures. *Journal of Applied Microbiology*, 1998, **85**, 277-281.

**HILBORN, E.D., MERMIN, J.H., MSHAR, P.A., HADLER, J.L., VOETSCH, A., WOJTKUNSKI, C., SWARTZ, M., MSHAR, R., LAMBERT-FAIR, M.A., FARRAR, J.A., GLYNN, M.K., SLUTSKER, L.** A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Arch Intern Med*, 1999, **159**, 15, 1758-1764.

- HIMATHONGKHAM, S., BAHARI, S., RIEMANN, H., CLIVER, D.O.** Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in cow manure and cow manure slurry. *FEMS Microbiol Lett*, 1999, **178**, 251-257.
- HUTCHISON, M.L., WALTERS, L.D., AVERY, S.M., SYNGE, MOORE, B.A.** Levels of zoonotic agents in British livestock manures. *Lett Appl Microbiol*, 2004, **39**, 2, 207-214.
- HUTCHISON, M.L., WALTERS, L.D., MORE, A., THOMAS ET D.J.I., AVERY, S.M.** Fate of pathogens present in livestock wastes spread onto fescue plots. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(2), 691-696.
- HUTCHISON, M.L., WALTERS, L.D., MOORE, A., AVERY, S.M.** (2005). Declines of zoonotic agents in liquid livestock wastes stored in batches on-farm. *Journal of Applied Microbiology*. 2005.
- ISLAM, M., MORGAN, J., DOYLE, M.P., PHATAK, S.C., MILLNER, P., JIANG, X.** Fate of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on carrots and radishes treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Applied And Environmental Microbiology*, 2004, 2497-2502.
- JACKSON, S.G., GOODBRAND, R.B., JOHNSON, R.P., ODORICO, V.G., ALVES, D., RAHN, K., WILSON, J.B., WELCH, M.K., KHAKHRIA, R.** *Escherichia coli* O157:H7 diarrhoea associated with well water and infected cattle on an Ontario farm. *Epidemiol Infect*, 1998, **120**, 1, 17-20.
- JACKSON, S.G., GOODBRAND, R.B., JOHNSON, R.P., ODORICO, V.G., ALVES, D., RAHN, K., WILSON, J.B., WELCH, M.K. et al.** *Escherichia coli* O157:H7 diarrhoea associated with well water and infected cattle on an Ontario farm. *Epidemiology and Infection*, 1998, **120**, 17-20.
- JACQUET, C.H., MARTIN, P., ROCOURT, J.** Surveillance microbiologique de la listériose humaine. CNR des *Listeria*. 2001.
- JIANG, X., MORGAN, J., DOYLE, M.P.** Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in manure-amended soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**, 2605-2609.
- JIMENEZ-CLAVERO, M.A., FERNANDEZ, C., ORTIZ, J.A., PRO, J., CARBONELL, G., TARAZONA, J.V., ROBLAS, N., LEY, V.** Teschoviruses as indicators of porcine fecal contamination of surface water. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**, 10, 6311-6315.
- JOHNSTON, D., CHAPMAN, R., MASSÉ, D., TOPP, E.** Evaluation of commercial odor control agents for suppressing *Escherichia coli* in swine manure slurry. *J Environ Qual*, 2002, **31**, 2120-2123.
- JOY, D.M., LEE, H., REAUME, C.M., WHITELEY, H.R., ZELIN, S.** Microbial contamination of subsurface tile drainage water from field applications of liquid manure. *Can Agric Eng*, 1998, **40**, 153-160.
- JUTEAU, P.** Traitement des lisiers et usage des antibiotiques dans l'industrie porcine. Mémoire présenté dans le cadre de la consultation sur le développement durable de l'industrie porcine organisée par le Bureau d'Audiences Publiques sur

l'Environnement (BAPE). Groupe de recherche en microbiologie de l'environnement INRS - Institut Armand-Frappier (Québec). 2003.

**KEARNEY, T.E., LARKIN, M.J., FROST, J.P., LEVETT, P.N.** Survival of pathogenic bacteria during mesophilic anaerobic digestion of animal waste. *J Appl Bacteriol*, 1993, **75**, 3, 215-219.

**KUDVA, I.T., BLANCH, K., HOVDE, C.J.** Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, **64**, 3166-3174.

**KUHN, I., IVERSEN, A., BURMAN, L.G., OLSSON-LILJEQUIST, B., FRANKLIN, A., FINN, M., AARESTRUP, F., SEYFARTH, A.M., BLANCH, A.R., VILANOVA, X., TAYLOR, H., CAPLIN, J., MORENO, M.A., DOMINGUEZ, L., HERRERO, I.A., MOLLBY, R.** Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment -- a European study. *Int J Food Microbiol*, 2003, **88**, 2-3, 133-145.

**LARSEN, H.E., MUNCH, B., SCHLUNDT, J.** Use of indicators for monitoring the reduction of pathogens in animal waste treated in biogas plants. *Zentralbl Hyg Umweltmed*, 1994, **195**, 5-6, 544-555.

**LARSEN, H.E., MUNCH, B., SCHLUNDT, J.** Use of indicators for monitoring the reduction of pathogens in animal waste treated in biogas plants. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, 1994, **195**, 5-6, 544-555.

**LESER, T.D., AMENUVOR, J.Z., JENSEN, T.K., LINDECORONA, R.H., BOYE, M., MOLLER, K.** Culture-independent analysis of gut bacteria : the pig gastrointestinal tract microbiota revisited. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**, 673-690.

**LETELLIER, A., MESSIER, S., PARÉ, J., MÉNARD, J., QUESSY, S.** Distribution of *Salmonella* in swine herds in Quebec. *Vet Microbiol*, 1999, **67**(4), 299-306.

**LEVASSEUR P.** Facteurs de variation du niveau des rejets et du volume de lisier produit par le porc. *Techniporc*, 1998, **21**, 5.

**LEVASSEUR P.** Composition et volume de lisier produit par le porc : Données bibliographiques. *Techniporc*, 1998, **21**, 4.

**LEVASSEUR P.** Composition chimique détaillée des aliments et des lisiers de porc. *Techniporc*, 2002, **25**, 1.

**LEVASSEUR P., TEXIER, C.** Compostages des déjections de porc à l'engrais élevés sur différents déchets ligneux : sciure, copeaux ou écorce. *Techniporc*, 2001, **24**, 6.

**LINDEN, P.K., MILLER, C.B.** Vancomycin-resistant enterococci : the clinical effect of a common nosocomial pathogen. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 1999, **33**, 113-120.

**MACKENZIE, W.R., HOXIE, N.J., PROCTOR, M.E., GRADUS, M.S., BLAIR, K.A., PETERSON, D.E., KAZMIERCZAK, J.J., ADDISS, D.G., FOX, K.R., ROSE, J.B., DAVIS, J.P.** A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med*, 1994, **331**, 161-167.

- MÉGRAUD F., PROUZET-MAULÉON, V.** Evolution de la résistance des *Campylobacters* aux antibiotiques en France (1986-2002). *BEH*, 2004, **32-33**, 156-158.
- MÉGRAUD, F.** Les infections à *Campylobacter* en France de 1986 à 2000. CNR des *Campylobacters* et *Hélicobacters*. 2001.
- MOMAS, I., CAILLARD, J.F., LESAFFRE, B.** Rapport de la Commission d'Orientation du Plan National Santé Environnement. Agence Française de Sécurité Sanitaire Environnementale. 2004.
- OLSON, M.E.** Human and Animal Pathogens in Manure. Conference on Livestock Options for the Future. Winnepeg, Manitoba, 2001.
- PATRIQUIN, D.G.** Reducing risks from *E. coli* O157:H7 on the organic farm. Available online at <http://www.cog.ca/efgsummer2000.htm#ecoli>. Canadian Organic Growers, Knowlesville, NB. 2000.
- PELL, A.N.** Manure and microbes: public and animal health problem. *J Dairy Sci*, 1997, **80**, 2673-2681.
- PLACHA, I., VENGLLOVSKY, J., SASAKOVA, N., SVOBODA, I.F.** The effect of summer and winter seasons on the survival of *Salmonella typhimurium* and indicator micro-organisms during the storage of solid fraction of pig slurry. *J Appl Microbiol*, 2001, **91**, 6, 1036-1043.
- RICKER, J., PETERS, S., GOLLING, R.** Evaluation of urban water quality. San Lorenzo river watershed management plan update. U.S. County of Santa Cruz. Water Resources Program. 2001.
- SAINI, R., HALVERSON, L.J., LORIMOR, J.C.** Rainfall timing and frequency influence on leaching of *Escherichia coli* RS2G through soil following manure application. *J Environ Qual*, 2003, **32**, 1865-1872.
- SALANITRO, J.P., BLAKE, I.G., MURIHEAD, P.A.** Isolation and identification of fecal bacteria from adult swine. *Appl Environ Microbiol*, 1977, **33**(1), 79-84.
- SAVILL, M.G., HUDSON, J.A., BALL, A., KLENA, J.D., SCHOLE, P., WHYTE, R.J., MCCORMICK, R.E., JANKOVIC, D.** Enumeration of *Campylobacter* in New Zealand recreational and drinking waters. *J Appl Microbiol*, 2001, **91**, 1, 38-46.
- SCHROEDER, C.M., ZHAO, C., DEBROY, C., TORCOLINI, J., ZHAO, S., WHITE, D.G., WAGNER, D.D., MCDERMOTT, P.F., WALKER, R.D., MENG, J.** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine and food. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**, 576-581.
- SENGELOV, G., AGERSO, Y., HALLING-SORENSEN, B., BALODA, S.B., ANDERSEN, J.S. JENSEN, L.B.** Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry. *Environ Int*, 2003, **28**, 7, 587-595.
- SPOELSTRA, S.F.** Enumeration and isolation of anaerobic microbiota of piggery waste. *Appl Environ Microbiol*, 1978, **35**(5), 841-846.



**TAUXE R.V.** Emerging foodborne diseases : an evolving public health challenge. *Emerging Infectious Diseases*, 1997, **3**, 425-434.

**TEXIER C.** Raisonner l'utilisation des déjections porcines de la valorisation agronomique aux traitements. *Techniporc*, 2001, **24**, 3.

**TEXIER C.** Les litières biomaîtrisées en porcherie. Comment concilier production porcine et protection de l'environnement. CEMAGREF Editions. Paris. 1999.

**TOP, E., MERGEAY, M., SPRINGAEL, D., VERSTRAETE, W.** Gene escape model : transfer of heavy metal resistance genes from *Escherichia coli* to *Alcalignes eutrophus* on agar plates and in soil samples. *Appl Environ Microbiol*, 1990, **56**, 2471-2479.

**TSCHÄPE, H., PRAGER, R., STRECKEL, W., FRUTH, A., TIETZE, E., BÖHME, G.** Verotoxinogenic *Citrobacter freundii* associated with severe gastroenteritis and cases of haemolytic uraemic syndrome in a nursery school : Green butter as the infection source. *Epidemiol Infect*, 1995, **114**, 4410-4450.

**VAILLANT, V., HAEGHEBAERT, S., DECLUDT, B., BOUVET, P., GRIMONT, F.** Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France en 1997. *BEH*, 1999, **17**.

**VAILLANT, V., DE VALK, H., BARON, E.** Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. Institut de Veille Sanitaire. 2004.

**VERNOZY-ROZAND, C., MONTET, M.P., LEQUERREC, F., SERILLON, E., TILLY, B., BAVAL, C., RAY-GUENIOT, S., BOUVET, J., MAZUY-CRUCHAUDET, C., RICHARD, Y.** Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in slurry, farmyard manure and sewage sludge in France. *Journal of Applied Microbiology*, 2002, **93**, 473-478.

**WATABE, M., RAO, J.R., STEWART, T.A., XU, J., MILLAR, B.C., XIAO, L., LOWERY, C.J., DOOLEY, J.S.G., MOORE, J.E.** Prevalence of bacterial faecal pathogens in separated and unseparated stored pig slurry. *Lett Appl Microbiol*, 2003, **36**, 4, 208-212.

**WEILL, F.X., LAILLER, R., BRISABOIS, A.** Tendances récentes de la résistance aux antibiotiques des *Salmonella* d'origines animale et humaine. *BEH*, 2004, **32-33**, 160-162.

**ZAHN, J.A., HATFIELD, J.L., LAIRD, D.A., HART, T.T., DO, Y.S., DISPIRITO, A.A.** Functional classification of swine manure management systems based on effluent and gas emission characteristics. *J Environ Qual*, 2001, **30**, 2, 635-647.

**ZHU, J., NDEGWA, P.M., LUO, A.** Bacterial responses to temperature during aeration of pig slurry. *J Environ Sci Health B*, 2002, **37**, 3, 265-275.