

Incidence d'une station d'épuration biologique sur le niveau de contamination en salmonelles des eaux et des boues résiduaires

JACOB B.¹, KORSAK N. ^{1*}; GROOVEN B. ¹; FLAMENT E.², DAUBE G.¹.

¹ Laboratoire de microbiologie des denrées alimentaires d'origine animale, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, Bât. B43bis, 4000 Liège.

Tél. : 0032 (0)4 / 366 40 17

Fax : 0032 (0)4 / 366 40 16

² Partenaire industriel. Route de Merckhof, 110 à 4880 Aubel

Tél. : 0032 (0)87 / 68 06 00

Fax : 0032 (0)87 / 68 06 10

Correspondance : E-mail : nkorsak@ulg.ac.be

RESUME : Des agents pathogènes, hébergés dans le tractus digestif de certains animaux domestiques, peuvent se retrouver dans les eaux usées des abattoirs et finalement dans les boues des stations d'épuration. *Salmonella*, agent pathogène pour l'homme et les animaux, est le plus souvent utilisé comme marqueur de risque biologique. La présente étude vise à déterminer l'efficacité d'une récente station d'épuration industrielle par la détermination rapide et semi-quantitative de la présence de ce micro-organisme.

Parmi sept entreprises agro-alimentaires déversant leurs eaux usées dans cette station d'épuration industrielle, un abattoir porcin fut la principale source de contamination avec un niveau moyen de contamination de plus de 10^3 salmonelles/ml proche de celui du mélange des eaux en entrée d'épuration. La station, basée sur un procédé d'épuration biologique, a permis de réduire le niveau de contamination dans les eaux sortantes à moins de 1 salmonelle/ml, soit un taux de réduction de 4 logarithmes décimaux. Le niveau de contamination diminue peu dans les étapes biologiques de traitement. C'est principalement dans le clarificateur que s'opère la réduction par adsorption des bactéries sur les matières en suspension. Le niveau moyen des salmonelles dans les boues fraîches s'élève à 10^2 salmonelles/g.

Lors du suivi microbiologique mensuel de deux tas de boues disposés en bordure de champs au début du mois de décembre 1999, sept mois ont été nécessaires avant de ne plus pouvoir isoler de salmonelles dans 25 g.

INTRODUCTION

De nombreux organismes pathogènes, tant pour l'homme que pour les animaux, sont excrétés dans les matières fécales des individus infectés ou porteurs sains (Jones *et al.*, 1980). Ces germes peuvent dès lors être rencontrés dans les eaux usées municipales et industrielles et finalement se retrouver dans les boues de stations d'épuration (De Zutter et Van Hoof, 1980). En effet, ils sont souvent associés à la fraction solide des eaux usées (Farrah et Bitton, 1983; Kayser *et al.*, 1987). Des métaux lourds et des composés organiques toxiques sont également associés aux boues résiduaires (Ahmed et Sorensen, 1995).

La quantité et la diversité des germes pathogènes retrouvés dans les boues et les eaux de rejets sont plus grandes si certaines entreprises tels que des abattoirs sont en amont de la station. En effet, les animaux peuvent être porteurs d'organismes pathogènes au niveau de la peau, des muqueuses, dans leur tube digestif et dans leurs déjections (Hinton et Bale, 1991; Strauch, 1991; Jacob *et al.*, 1999; Groven *et al.*, 2000). La concentration de ces agents pathogènes dans les boues est fonction de leur affinité pour les fractions solides des boues ainsi que du manque d'efficacité des traitements d'inactivation. Les boues récupérées des clarificateurs sont des

boues fermentescibles qui nécessitent une stabilisation ultérieure telle que digestion aérobie ou anaérobie, compostage, chaulage, stockage stratégique longue durée,... Le devenir des micro-organismes véhiculés par les eaux usées sera aussi fonction de l'espèce microbienne (Farrah et Bitton, 1984; Elissalde *et al.*, 1994). Dans le cas d'une épuration biologique, c'est-à-dire avec aération prolongée, les boues récoltées sur clarificateur sont stabilisées et utilisables en l'état (Elissalde *et al.*, 1994).

Dans les boues de stations d'épurations, Dudley et collaborateurs (1980) ont répertorié la présence de nombreuses bactéries: *Pseudomonas*,

Staphylococcus, *Mycobacterium*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacteriaceae*,... Certaines sont des parasites obligés et ne survivent pas longtemps en dehors de l'hôte, alors que d'autres, bien que principalement associées à des animaux survivent dans l'environnement durant de longues périodes et parfois même, peuvent s'y multiplier. D'autres encore sont des parasites libres (Hinton et Bale, 1991).

Etant donné que les étables, via leurs installations de récupération des urines et des matières fécales, jouent le rôle d'un bassin de récolte, les germes pathogènes excrétés par les animaux domestiques parviennent dans le fumier ou le lisier, même si les animaux n'ont jamais montré de signe clinique de maladie. C'est pourquoi les effluents d'élevage doivent être généralement considérés comme infectés et faire l'objet de traitements d'assainissement particuliers (Strauch, 1991).

Les problématiques sanitaires des boues résiduaires et des déjections animales sont finalement assez proches. Avec les déjections animales, les risques de bouclage de cycles pathogéniques courts au sein même du troupeau en place ou des élevages voisins sont accrus. Le problème ne concerne pas uniquement la santé des animaux domestiques mais aussi celle des humains (Elissalde *et al.*, 1994).

Le principal risque sanitaire est lié à l'ingestion par les animaux domestiques de végétaux pouvant être souillés lors de la valorisation dans l'agriculture des effluents d'élevage. Les eaux de surface peuvent également être atteintes à partir d'un sol contaminé en présence d'une pluviométrie importante, d'une forte pente, d'un sol nu et de la proximité d'un cours d'eau (Elissalde *et al.*, 1994). Finalement, les grandes cultures peuvent être contaminées et leurs produits peuvent entrer dans la préparation d'aliments.

Parmi les bactéries pathogènes, celles du genre *Salmonella*, bactéries pathogènes ubiquistes, sont responsables d'une grande partie des toxi-infections d'origine alimentaire (Mead *et al.*, 1999). Elles sont fréquemment rencontrées dans les matières fécales d'animaux porteurs sains, tels que les porcs ou les volailles, et malades, ou

encore chez l'homme et les animaux sauvages. Du fait de la localisation de cette bactérie dans le tube digestif, il résulte que les eaux usées provenant des abattoirs et des boyauderies peuvent être contaminées en salmonelles et ainsi les disséminer dans l'environnement; Daube *et al.*, 1999; Daube *et al.*, 2000; Groven *et al.*, 2000).

Les objectifs de cette étude sont de quantifier les niveaux de contamination en salmonelles des eaux provenant de différentes entreprises agro-alimentaires, d'estimer également l'effet d'une station d'épuration récente sur le niveau de contamination et, enfin, de mesurer le temps de survie de *Salmonella* dans les boues au cours d'un stockage de longue durée.

MATERIEL ET METHODES

A) Description de la station

La station étudiée, de 80.000 équivalents-habitants, traite les eaux usées industrielles provenant exclusivement de sept entreprises agro-alimentaires. Elle a une capacité de traitement de 33 m³ par heure dont 11 m³ proviennent d'un abattoir porcin, 2 m³ d'un abattoir bovin et 20 m³ d'autres entreprises (cidrerie, siroperie, transformation de la viande). Son fonctionnement est un enchaînement de **procédés biologiques** comprenant une homogénéisation forcée des eaux dans un bassin tampon suivi d'un traitement dans les bassins successifs suivants: anaérobie, anoxie, aération, endogène (dans ce bassin, existe une alternance de phases aérobies et anoxiques, les bactéries utilisant leurs propres réserves en carbone pour transformer les nitrates en azote gazeux), dégazage et, finalement, un clarificateur avec recirculation d'une partie des boues dans le bassin anaérobie. Les boues excédentaires sont déshydratées et stockées en conteneurs avant d'être prises en charge par une société agréée pour l'évacuation des boues.

L'abattoir porcin abat en moyenne 9.000 porcs par semaine. Les estomacs et intestins des animaux sont vidés, nettoyés et raclés mais la fraction solide contenue dans l'eau est récupérée avant d'atteindre la station, de même que les graisses. Pour l'abattoir bovin, dont le volume heb-

domadaire moyen d'abattage est de 500 à 700 animaux, un procédé similaire est suivi. Le temps moyen de rétention de l'eau dans la station est d'approximativement une semaine.

En outre, une comparaison a été effectuée en 1999 avec la station urbaine municipale de 8.000 équivalents habitants, qui récolte les eaux provenant de l'égouttage public et des voiries du village, le principe de fonctionnement de cette station étant, lui aussi, exclusivement biologique.

B) Prélèvements

Les eaux et les boues ont été récoltées à quatre reprises (2x en été, 1x en hiver et 1x au printemps) pour évaluer les variations saisonnières du niveau de contamination. Le prélèvement a été réalisé dans des flacons plastiques stériles de 1 litre pour les eaux et en sacs stériles pour les boues. Après collecte, les échantillons ont été acheminés au laboratoire, placés à une température de 5°C et analysés dans les 72 heures.

Pour déterminer le temps de survie des salmonelles dans les boues durant un stockage de longue durée, deux conteneurs de boues ont été placés en bordure d'un champ l'un à côté de l'autre, à une semaine d'intervalle, au début du mois de décembre 1999. Ceci permettait de simuler des conditions réelles d'utilisation. L'échantillonnage a été réalisé mensuellement, directement en surface ainsi qu'à ± 60 cm de profondeur, du mois de décembre au mois de juin 2000.

Aucun traitement chimique n'a été appliqué aux boues avant stockage et aucune manipulation n'a été effectuée une fois les conteneurs disposés sur site.

C) Méthodes d'analyse

Des dilutions décimales successives des échantillons (de 100 ml à 10⁻³ ml suivant la charge de l'eau) ont été enrichies pendant 18 ± 2 heures à 37°C en eau peptonée tamponnée (EPT, CM509, Oxoid, Basingstoke, Royaume-Uni).

Une membrane d'acétate de cellulose d'une porosité de 0,45 mm (1140647ACN, Sartorius, Vilvoorde, Belgique) a été incubée dans 100 ml d'EPT après filtration de 100 ml d'échantillon. Pour les deux dilutions décimales suivantes, aucune filtration

n'a été opérée, 10 ml et 1 ml d'eau ont été inoculés dans 90 et 9 ml d' EPT respectivement.

Pour les plus petites quantités, des aliquotes des différentes dilutions ont été inoculés dans un volume final d'EPT de 10 ml. Après incubation, 100 µl du bouillon d'enrichissement ont été placés au centre d'une boîte de milieu Diassalm (Lab 587, LabM, International Diagnostic Group plc, Lancashire, Royaume-Uni) et incubés à 42°C pendant 24 heures. La sélectivité de ce milieu semi-solide est basée sur la capacité des salmonelles à se multiplier et à diffuser dans l'épaisseur de la gélose. Si une présomption de *Salmonella* était identifiée, une anse était étalée sur gélose XLT4 (Xylose Lysine Tergitol 4, 63654, Biorad, Marnes La Coquette, France) et incubée pendant 22 heures à 37°C. Finalement, une seule colonie caractéristique par boîte a été transférée sur

milieu « Triple Sugar Iron » (24h à 37°C) et une caractérisation biochimique (API 20 E) a confirmé le résultat. Les souches isolées ont été sérotypées selon le schéma de Kauffman-White (Rowe et Hall, 1989; Popoff et Le Minor, 1997).

Concernant les boues disposées en conteneurs le long d'un champ, le même protocole d'analyse a été suivi. Les salmonelles ont été recherchées dans des quantités de boues allant de 25 g à 1 mg.

RESULTATS

1. Quantification du niveau de contamination de la station

Aucune variation saisonnière significative n'a été observée entre les différents essais pour l'estimation du niveau de contamination des eaux

(tableau I). Parmi les sept entreprises déversant leurs eaux usées à la station, la principale source de contamination était l'abattoir porcin et occasionnellement l'abattoir bovin (une seule fois sur trois essais). Aucune salmonelle n'a pu être mise en évidence pour les autres entreprises agro-alimentaires. Le niveau de contamination des salmonelles dans les eaux du bassin tampon s'élevait à 10³ salmonelles par ml tout comme dans les eaux provenant de l'abattoir porcin (figure 1). En fin de processus, le niveau de contamination a chuté à moins de 1 salmonelle/ml.

Durant le processus d'épuration de l'eau dans la station industrielle traitant les eaux usées des entreprises agro-alimentaires (avant clarification), la réduction des salmonelles est très faible. En aval de la station, les eaux épurées de la station industrielle sont canalisées et vont se mélanger

Tableau I : Présentation des résultats de la station au cours des quatre essais selon les volumes des prises d'essai analysées (A = absence, P = présence).

	100 ml	10 ml	1 ml	0,1 ml	0,01 ml	0,001 ml
Découpe bovine (I.A.A. 3)	A	A/A	A/A	A/A	A	
Cidrerie (I.A.A. 4)	Δ/Δ	Δ/Δ	Δ/Δ			
Siroperie (I.A.A. 5)	A/A	A/A	A/A			
Découpe porc (I.A.A. 6)	A/A	A/A/A	A/A/A	A/A	A	
Charcuterie (I.A.A. 7)		Δ/Δ/Δ	Δ/Δ/Δ	Δ	Δ	
Abattoir porcin (I.A.A.1)		P	P	P/P/P/P	P/P/P	P/A/P
Abattoir bovin (I.A.A. 2)		P/Δ/Δ	P/Δ/Δ	Δ/Δ/Δ		
Pré-épuration		P	P	P/A	P	A
Bassin tampon		P	P	P/P/P/Δ	P/P/P	P/Δ/P
Bassin anaérobie		P	P	P/P	P	A
Bassin anoxic		P	P	P/P	Δ	Δ
Bassin aération		P	P	P/P	Δ	Δ
Bassin endogène		P	P/P	A/P		
Clarificateur	P/P	P/P/P/Δ	Δ/Δ/Δ/Δ	Δ		
Source ruisseau	A/A	A/A	A/A	A	A	
Sortie station	P	P	Δ/Δ	Δ/Δ	Δ	Δ
Ruisseau à 10 m	P	P/P/P	P/A/P/A	A/A/A	A	A
Ruisseau à 500 m	P/P/P	Δ/Δ/Δ	Δ/Δ/Δ			
Ruisseau à 1 km (station urbaine)	P/P/P	P/P/Δ	Δ/P/Δ	Δ/Δ	Δ	
Entrée station urbaine		P	P	Δ	Δ	Δ
Sortie station urbaine	A	A	A	A	A	
Rivière	Δ/Δ/Δ	Δ/Δ/Δ	Δ/Δ	Δ	Δ	

I.A.A. = Industrie Agro-alimentaire
 Noir = première étude en juin 1999
 Bleu = seconde étude en juillet 1999
 Rouge = troisième étude en janvier 2000
 Rose = quatrième étude en mai 2000

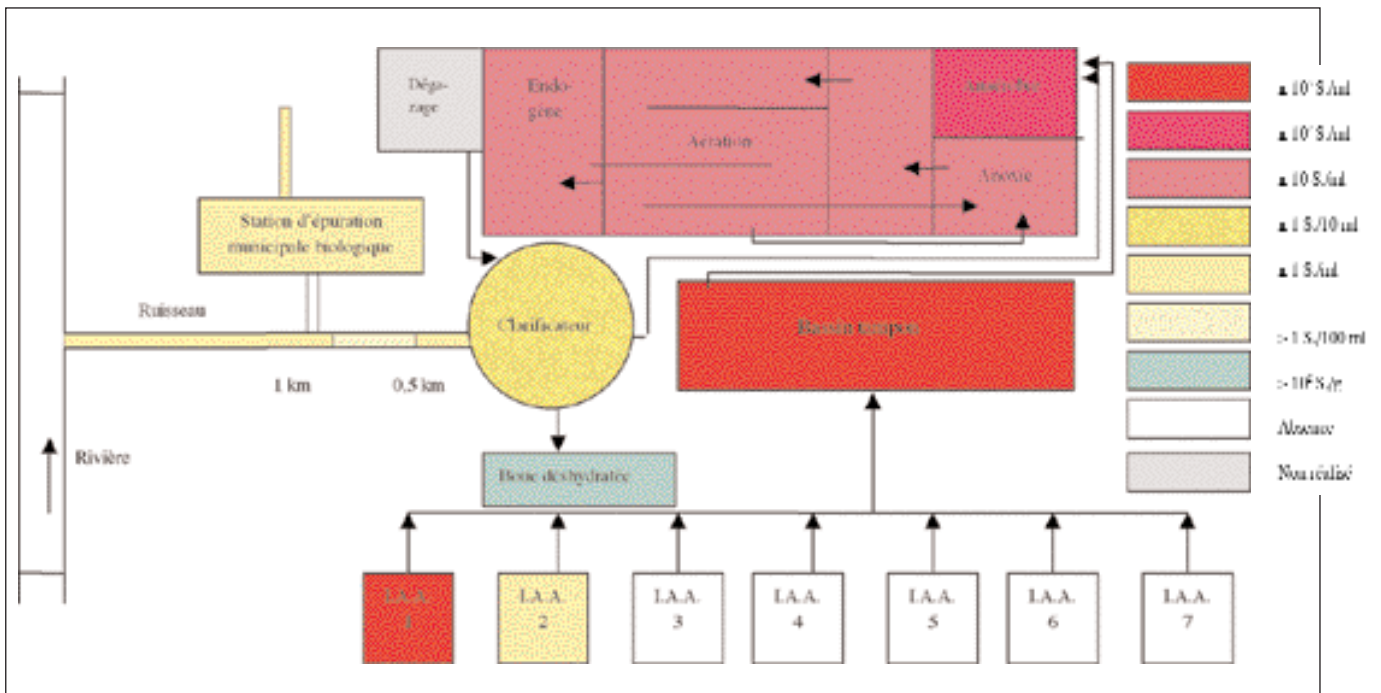


Figure 1: Illustration du niveau de contamination en salmonelles dans la station d'épuration, les différentes entreprises agroalimentaires (I.A.A.) et en aval de la station ainsi que dans la station d'épuration urbaine.

avec celles d'un ruisseau. Aucune salmonelle n'a été mise en évidence dans les eaux provenant de ce ruisseau avant mélange. Dix mètres après le mélange des eaux du ruisseau et de la station industrielle, le niveau de salmonelles s'élève à environ 1 organisme/ml. Néanmoins, 500 mètres plus loin, le niveau n'atteint plus que 1 salmonelle/100 ml. Enfin, 1 km après la sortie de la station urbaine, le niveau varie entre 1 et 100 salmonelles/100 ml pour finalement ne plus être détectable du tout lorsque le ruisseau se jette dans le cours d'eau plus important.

Dans la station urbaine municipale, des salmonelles y ont été détectées à un niveau d'environ 1 organisme/ml en entrée de station mais plus aucune salmonelle n'a pu être détectée après traitement et, ce, dans un échantillon de 100 ml.

2. Effet de stockage des boues

Les résultats montrent que les deux tas n'ont pas évolué à la même vitesse (figure 2). Après 7 mois de stockage, aucun des deux tas ne permettait la mise en évidence de salmonelle dans 25 g. Durant les premières semaines de stockage, une activité microbienne a été observée en raison d'une température modérée au cœur des tas. Mais avec les conditions hivernales, la température chuta et ne remonta pas au-delà de la température extérieure, même avec les meilleures conditions climatiques du printemps. Cependant,

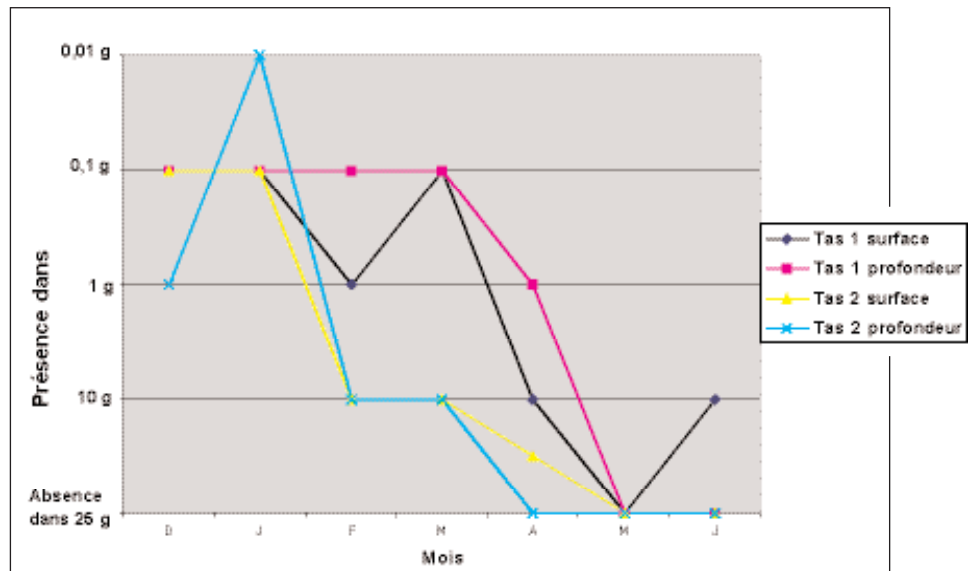


Figure 2 : Evolution du taux mensuel des salmonelles dans les deux tas de boues au cours du stockage longue durée.

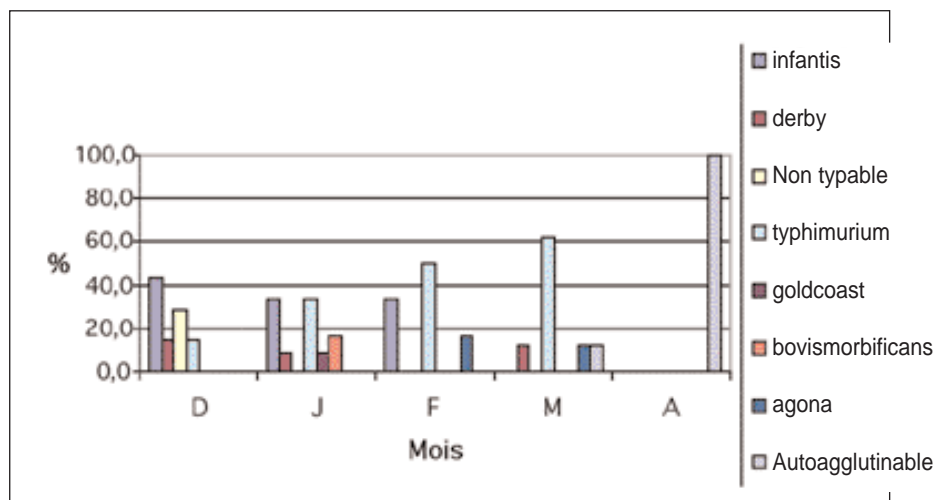


Figure 3 : Prévalence des sérotypes de salmonelles dans les boues au cours du temps.

avec l'augmentation des températures printanières, le niveau de contamination commença à décroître dans les deux tas (après 2 et 4 mois de stockage respectivement) avec une réduction moyenne de 1 logarithme par mois.

Durant le stockage longue durée, le pourcentage relatif des *Salmonella typhimurium* parmi l'ensemble des autres sérotypes augmente sensiblement avant disparition (figure 3).

DISCUSSION

D'après Shuval (1991), le système le plus efficace pour le traitement des eaux de station d'épuration est l'utilisation des boues activées entraînant une réduction de 90 à 99% des virus, protozoaires et helminthes et de 90 à 99,9% des bactéries. Les procédés de ce type ne peuvent atteindre de plus haut taux de réduction des pathogènes sans ajout de produits chimiques coûteux, le but premier de ces stations d'épuration étant, avant tout, de retirer les matières organiques de l'eau pour éviter la pollution des cours d'eau. D'après Elissalde et collaborateurs (1994), le meilleur système pour éliminer les germes pathogènes des eaux usées est le bassin de stabilisation ouvert à l'air (lagunage) qui fait appel à de nombreux procédés chimiques et physiques.

Dans la présente étude, l'effet de réduction de la station peut être établi à environ 4 log₁₀, ce qui équivaut à une réduction «moyenne à bonne» (Elissalde *et al.*, 1994). Les mêmes auteurs qualifient la réduction de «faible» quand elle est inférieure à 2 log₁₀ et «d'excellente» quand elle est supérieure à 6. Dans l'étude de De Zutter et Van Hoof (1984), une réduction des salmonelles de 5 log₁₀ a été observée pour une station d'épuration chimique lorsque le pH était ajusté à 2,5. Le taux de réduction, qui permet d'exprimer l'efficacité du traitement opéré (Elissalde *et al.*, 1994), a été calculé et la valeur de 99,9 % a été obtenue pour les salmonelles.

Les variations du niveau de contamination des salmonelles le long du cours d'eau pourraient être attribuables à des zones de courants plus importantes où les turbulences créées remettraient en suspension les salmo-

nelles déposées sur le lit. Un effet de dilution n'est également pas exclu, puisque aucune salmonelle n'a été détectée dans le cours d'eau principal.

Si la réduction dans les eaux est bonne, en contrepartie, les pathogènes se sont concentrés dans les boues d'épuration. Il est à noter que le fait de retrouver des salmonelles dans le tas 1 en surface dans 10 g et pas dans 25 g après 7 mois alors que l'on en avait plus détecté après 6 mois peut être dû à une contamination aérienne par d'autres tas de boues fraîchement placés juste à côté des tas suivis dans l'expérience ou bien encore au hasard du prélèvement.

La problématique des boues étant sensiblement la même que celle des lisiers, une étude microbiologique préliminaire a été réalisée sur quelques lisiers provenant de différentes exploitations porcines. Un échantillon de lisier sur 11 a donné une réponse positive pour les salmonelles dans 25 g. Lors d'une étude de détermination du seuil de sensibilité de la méthode sur des échantillons de lisier artificiellement contaminés, la méthode a permis de montrer que le seuil minimal de détection des salmonelles était compris entre 1 et 100 CFU¹/25g. Ceci tend à montrer que ce n'est pas la méthode qui n'a pas permis de détecter des lisiers positifs mais qu'il semble plus rare d'en rencontrer.

L'efficacité d'un traitement ultérieur des boues peut être examiné sur deux plans : la réduction des contaminants durant le traitement et la capacité de blocage des croissances ultérieures. Le stockage longue durée des boues est une alternative intéressante aux procédés visant à réduire les pathogènes (Ahmed et Sorensen, 1995). Le stockage stratégique est, d'après Elissalde et collaborateurs (1994), considéré comme un traitement d'efficacité moyenne. Il peut néanmoins permettre, sous certaines conditions, une croissance bactérienne mais, généralement, la plupart des pathogènes sont incapables de se multiplier dans le milieu que constituent les boues et connaissent une évolution variable suivant les saisons. C'est ainsi que 6 mois de stockage en été sont efficaces (réduction bonne à excellente) alors que 6 mois en hiver le sont beaucoup moins (réduction

faible à moyenne). Tous les traitements qui favorisent le développement de la flore saprophyte et qui stabilisent la matière organique limitent les croissances ultérieures de *Salmonella*.

Dans des conditions de laboratoire, Farrah et Bitton (1983) ont montré que la diminution de *Salmonella typhimurium* était similaire à 28°C que ce soit sous conditions aérobies ou anaérobies mais était toujours supérieure à une digestion aérobie à 6 °C, montrant ainsi l'importance de la température.

Farrell et collaborateurs (1990) ont cherché à évaluer si les stations sans clarificateur primaire mais avec une longue rétention des eaux et boues dans un procédé biologique (comme la station ici présentée) étaient en mesure d'atteindre les exigences PSRP (*Process to Significantly Reduce Pathogens*) pour les boues. L'usage des boues de cette catégorie sur les cultures est autorisé sous certaines conditions. Tout d'abord, ces procédés engendrent un effluent de qualité proche des autres procédés. Ensuite, le flux unique de boues a généralement une fraction solide volatile et un potentiel de putréfaction moindre que celui des boues mélangées des autres stations. Toutefois, la réduction des pathogènes pourrait ne pas être aussi grande qu'espérée car ces boues sont intimement mélangées avec l'eau brute pour produire son effet ; cela leur laisse l'opportunité d'adsorber ou d'inclure une grande quantité de pathogènes provenant de l'eau entrante. Dans une étude réalisée sur six stations d'épuration, le taux de réduction des salmonelles, entre l'eau usée entrante et les boues sortantes, a été évalué à 4,7 et à 1,81 log pour les deux stations fonctionnant avec un procédé d'aération et de boues activées. Cependant, l'unité permettant de comparer les eaux et les boues était le nombre d'organismes par gramme de solide volatile en suspension² (Surampalli *et al.*, 1994). L'âge des boues était cependant supérieur à 20 et 30 jours respectivement. Kayser et collaborateurs (1987) ont montré dans une station d'épuration biologique que seulement 30 à 35 % des salmonelles étaient trouvées librement dans l'eau mais que 60 % de ces dernières étaient finalement

1 CFU = Colony Forming Unit (Unités Formant Colonies)

2 Les solides volatiles en suspension sont la portion du contenu solide total des boues qui est éliminée lorsque la boue est chauffée à 550°C.

concentrées dans les boues. La décanation semble donc être l'étape la plus importante pour éliminer les salmonelles des eaux.

Étant donné que dans de nombreux pays 40 à 80 % des boues sont utilisées dans l'agriculture, le problème des salmonelles doit être étudié plus en détail. Dans une étude de grande envergure (Strauch, 1991), 303 échantillons de boue après épandage ont été examinés. *Salmonella* a été retrouvée sur l'herbe dans 26 % de tous les échantillons analysés jusqu'à la cinquième semaine. Les échantillons étaient négatifs seulement après six semaines. Dans 59 % des échantillons de la surface du sol, les salmonelles ont persisté jusqu'à la dixième semaine. Dans la croûte de la boue qui peut se former lors de périodes prolongées de sécheresse, 84 % de tous les échantillons pris jusqu'à la seizième semaine contenaient des salmonelles.

Le temps de survie de *Salmonella* dans les tas de boues (plus de 6 mois) approche ce que d'autres ont déjà pu mettre en évidence lors d'autres études (Strauch, 1991). Ahmed et Sorensen (1995) ont montré, en laboratoire, que la destruction de *Salmonella typhimurium* dans des boues digérées dépendait surtout de la température puis, dans une moindre mesure, du taux spécifique de demande en oxygène. Ainsi, à 49°C, sept jours suffisaient pour ne plus pouvoir détecter de salmonelles, alors qu'à 5°C, aucune destruction n'était détectable après 62 jours. Dans la présente étude, une élimination plus rapide aurait pu être atteinte si les tas avaient été placés initialement au printemps ou si un compostage avait été réalisé. De plus, comme les boues ont subi les effets du gel au début de leur entreposage, la flore compétitrice des salmonelles pourrait avoir été réduite, expliquant ainsi la survie des salmonelles. En conclusion, avec le temps moyen de survie des salmonelles qui a été déterminé dans cette étude et si les boues étaient directement épandues sur le sol sans stockage stratégique, il n'y aurait théoriquement aucun risque, puisque la durée d'une grande culture est généralement d'au moins six à sept mois, ce qui est le délai observé pour ne plus retrouver de salmonelles.

Par la source de nutriments qu'elle représente, la matière organique des boues est favorable aux micro-organismes pathogènes. L'activité biolo-

gique du milieu diminue la résistance des micro-organismes par compétition pour les nutriments et sans doute aussi par prédation par des protozoaires ciliés (Dudley *et al.*, 1980). Millner et collaborateurs (1987) ont montré qu'il existait des antagonistes microbiens qui, lorsqu'ils sont présents, tuaient ou bien diminuaient la vitesse de croissance des salmonelles dans les boues.

Comme la boue concentre la charge microbienne, les risques liés à l'épandage des boues doivent être maîtrisés par le respect d'un certain nombre de règles précises. Il existe des recommandations qui traduisent des précautions sanitaires ou des restrictions d'usage : restriction ou interdiction d'épandre sur des cultures particulières (telles que fruits et légumes consommables crus ou pâturages); délais à respecter entre l'épandage et l'implantation ou l'utilisation de ces cultures particulières ; contraintes sur les techniques d'épandage, l'époque et le traitement des boues (Elissalde *et al.*, 1994).

Bien que le « fumier » contienne généralement au moins 10^{10} bactéries/ml, les enquêtes réalisées au Royaume-Uni n'ont jamais révélé des concentrations en salmonelles par ml au-dessus de 10^2 . Toutefois, les concentrations peuvent être plus élevées lorsque du bétail apparemment sain excrète jusqu'à 10^7 salmonelles/g de fèces (Strauch, 1991).

Il est généralement admis que la plupart des pathogènes sont réduits pendant le stockage de lisier (Findlay, 1972). La raison en est que les pathogènes sont adaptés à croître dans le tube digestif de leurs hôtes et que le lisier n'est pas adapté à leur survie. Le type de lisier, la température de stockage et le sérotype des salmonelles peuvent affecter le temps de survie qui dépend aussi en grande partie du nombre de salmonelles présentes au début du stockage (Jones *et al.*, 1980). La survie est plus grande à des températures inférieures à 10°C et dans les lisiers contenant plus de 5 % de fraction solide (Jones, 1976). Elle est plus longue dans les lisiers de bovins, intermédiaire dans les lisiers de porc et plus courte dans les fumiers de volailles (Strauch, 1991). Jones et collaborateurs (1980) citent encore une étude dans laquelle quelques salmonelles ont survécu jusqu'à 150 jours dans le lisier. Toutefois, 90 % d'entre elles étaient mortes dans les

quatre premières semaines au moment de la chute importante du pH du lisier. Il existe également des lignes de conduite pour l'utilisation normale du lisier (Strauch, 1991).

En conclusion, le risque direct pour la santé animale et humaine suite à l'épandage d'engrais organiques est faible. Cependant, les boues d'abattoir de mammifères représentent le danger le plus élevé pour les animaux d'élevage mais globalement le risque n'est pas supérieur à celui lié à l'épandage des effluents d'élevage. D'après des études épidémiologiques, il y a très peu de risques liés à *Salmonella spp.* lorsque les recommandations d'épandage sont respectées. L'absence de problèmes notables depuis que la valorisation agronomique est pratiquée avec les règles actuelles est extrêmement rassurante. L'amélioration progressive des règles sanitaires, des conditions d'assainissement (augmentation du niveau global d'épuration, traitement des boues,...) et des épandages permettent de penser que la situation évolue sans cesse plus favorablement. Des études expérimentales complémentaires sur l'évolution de la charge en salmonelles des boues et lisiers sous différentes conditions de conservation ou de traitement devraient être menées pour établir des guides adaptés avec des critères à atteindre.

A partir de ces résultats, un programme national de surveillance bactériologique des stations d'épuration devrait être instauré afin d'évaluer la qualité des eaux en fin de processus d'épuration ainsi que des boues d'épuration après traitement stabilisant mais avant épandage.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier le *Ministère de la Région Wallonne (Direction Générale de l'Agriculture) et le Ministère Fédéral de l'Agriculture et des Petites Entreprises* pour leur soutien financier au projet intitulé « Recherche d'une méthodologie pour la mise en place d'une filière intégrée de production de viande porcine *Salmonella-free* », qui a débuté en février 1999. Ils sont redevables également à E. Flament, qui a autorisé la collecte des échantillons dans les fermes suivies et à la société Sanofidiagnostique Pasteur nouvellement intégrée dans la société Bio-Rad.

Influence of a water purification unit on the contamination level of salmonella in outgoing water and sludge

ABSTRACT

Foodborne pathogens occasionally harboured in the gastro-intestinal tract of some domestic animals may be retrieved in slaughterhouses waste water and in sludge of water purification units. *Salmonella*, pathogen common to man and animals, is often used as a biological risk indicator. The aim of the present study was to assess effectiveness of a recent water purification unit by rapid and

semi-quantitative detection of this micro-organism.

The water purification unit collects waste water of seven food-processing industries, including a pig slaughterhouse. This latest was the main source of *Salmonella* contamination with a level of more 10^3 colony forming unit (CFU) per ml, that was very close to the average level of contamination of total incoming waste water. The unit, whose principle of action is based on biological purification, has permitted a $4 \log_{10}$ reduction of *Salmonella* contamination, with a final contamination level of less than 1 CFU/ml. It was observed

only a little decrease of contamination levels during the biological treatment steps, in contrast with the one observed during the clarification step. This was due to adsorption of bacteria by material in suspension. Fresh sludge were harboured an average of 10^2 CFU of *Salmonella* per gram.

In the beginning of December 1999, two sludge piles were let on the ground along a field and sampled microbiologically every month. Seven month later, no *Salmonella* were recovered from the piles.

BIBLIOGRAPHIE

- AHMED A.U., SORENSEN D.L. Kinetics of pathogen destruction during storage of dewatered biosolids. *Water Environ. Res.*, 1995, **67**, 143-150.
- DE ZUTTER L., VAN HOOFF J. Bacteriological Contamination in Wastewaters from Slaughterhouses. *Zbl. Bakt. Hyg. [B]*, 1980, **171**, 269-279.
- DE ZUTTER L., VAN HOOFF J. Occurrence of *Salmonella* in a Chemical Wastewater Treatment Plant. *Zbl. Bakt. Hyg. [B]*, 1984, **179**, 440-448.
- DUDLEY D.J., GUENTZEL M.N., IBARRA M.J., MOORE B.E., SAGIK B.P. Enumeration of potentially pathogenic bacteria from sewage sludges. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1980, **39**, 118-126.
- DAUBE G., GHAFIR Y., DUMONT J.M., FRANCOIS J.F., CORNELIS M., JOURET M., DE ZUTTER L. Proposition of microbial criteria for the quality control of faecal contamination in Belgian slaughterhouses and cutting room. Fourth conference in food microbiology proceedings, Liège, Belgique, 16-17 juin 1999, p. 187.
- DAUBE G., GHAFIR Y., DUMONT J.M., FRANCOIS J.F., CORNELIS M., JOURET M., DE ZUTTER L. Application and revision of microbiological criteria for the quality control of faecal contamination in Belgian slaughterhouses and cutting rooms. Fifth conference in food microbiology proceedings, Liège, Belgique, 22-23 juin 2000, p. 160.
- ELISSALDE N., GANIERE J.P., L'HOSTIS M. Les germes pathogènes dans les boues résiduares des stations d'épuration urbaines. Collection valorisation agricole des boues d'épuration, Connaître pour agir, Guides et cahiers techniques, 1994, 87 p.
- FARRAH S.R., BITTON G. Enteric bacteria in aerobically digested sludge. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1984, **47**, 831-834.
- FARRAH S.R., BITTON G. Bacterial survival and association with sludge flocs during aerobic and anaerobic digestion of wastewater sludge under laboratory conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1983, **45**, 174-181.
- FARRELL J.B., SALOTTO B.V., VENOSA A.D. Reduction in bacterial densities of wastewater solids by three secondary treatments processes. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 1990, **62**, 177-184.
- FINDLAY C.R. The persistence of *Salmonella dublin* in slurry in tanks and on pasture. *Vet. Rec.*, 1972, **91**, 233-235.
- GROVEN B., JACOB B., FLAMENT E., DAUBE G. Prevalence of *Salmonella* along a Belgian meat pork production system. Fifth conference in food microbiology proceedings, Liège, Belgique, 22-23 juin 2000, p. 155.
- HINTON M., BALE M.J. Bacterial pathogens in domesticated animals and their environment. *J. Appl. Bacteriol.*, 1991, **70**, 81S-90S.
- JACOB B., GROVEN B., FLAMENT E., VERSTRAETE E., DAUBE G. Implementation of a *Salmonella-free* meat pork production system in Belgium : study plan, methods and preliminary screening results. In : P.B. Bahnsen (Ed), Proceedings of the Third international symposium on epidemiology and control of *Salmonella* in pork, Washington, August 5-7, 1999, 356-357.
- JONES P.W., BEW J., BURROWS M.R., MATTHEWS P.R.J. The occurrence of *Salmonellas*, mycobacteria and pathogenic strains of *Escherichia coli* in pig slurry. *J. Hyg. (Lond.)*, 1976, **77**, 43-50.
- JONES P.W. The effect of temperature, solids content and pH on the survival of salmonellas in cattle slurry. *Br. Vet. J.*, 1976, **132**, 284-293.
- JONES P.W., RENNISON L.M., LEWIN V.H., REDHEAD D.L. The occurrence and significance to animal health of

- salmonellas in sewage and sewage sludge. *J. Hyg. (Lond.)*, 1980, **84**, 47-62.
- KAYSER R., BOLL R., MÜLLER H.E. Quantitative determination of the elimination of salmonellae by biological treatment of water. *Zbl. Bakt. Hyg. [B]*, 1987, **184**, 195-205.
- MEAD P.S., SLUTSKER L., DIETZ V., MCCAIG L.F., BRESEE J.S., SHAPIRO C., GRIFFIN P.M., TAUXE R.V., Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* 1999, **5**, 607-625.
- MILLNER P.D., POWERS K.E., ENRIKI N.K., BURGE W.D. Microbially mediated growth suppression and death of Salmonella in composted sewage sludge. *Microb. Ecol.*, 1987, **14**, 255-265.
- POPOFF M. Y., LE MINOR L. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on **Salmonella**: Paris, 1997, 151 p.
- ROWE B., HALL M.L.M. Kauffman-White scheme. Public Health Laboratory Service : London, 1989, 77 p.
- SHUVAL H.I. Effect of wastewater irrigation of pastures on the health of farm animals and humans. *Rev. - Off. Int. Epizoot.*, 1991, **10**, 847-866.
- STRAUCH D. Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. *Rev. - Off. Int. Epizoot.*, 1991, **10**, 813-846.
- SURAMPALLI R.Y., BANERJI S.K., CHEN J.C. Microbiological stability of wastewater sludges from activated sludge systems. *Bioresour. Technol.*, 1994, **49**, 203-207.