

Conventions 03 75 C 0093 et 06 75 C 0071  
ADEME / SYPREA / FP2E / INERIS

Evaluation des risques sanitaires des filières  
d'épandage des boues de stations d'épuration

# BASE SCIENTIFIQUE DE L'ÉVALUATION DES RISQUES SANITAIRES RELATIFS AUX AGENTS PATHOGENES

**ADEME**



*version 1 du 15 octobre 2007*

Version	Date	Avis pris en compte
0	04 novembre 2005	Avis d'un collectif d'experts (cf. page 2 du document introductif aux agents pathogènes) Avis des professionnels concernés
1	15 octobre 2007	Avis des ministères concernés : ministère en charge de l'agriculture, ministère en charge de la santé, ministère en charge de l'environnement  Avis de l'OPERSEI (observatoire des pratiques de l'évaluation des risques sanitaires dans les études d'impact)  Avis des professionnels concernés

# **Evaluation des risques sanitaires des filières d'épandage des boues de stations d'épuration**

Conventions ADEME n° 03 75 C 0093 et 06 75 C 0071

Dates : 05 décembre 2003 et 15 mai 2007

Durées : 23 mois et 5 mois

Isabelle Déportes (ADEME)

Hubert Brunet (SYPREA)

Michel Aupetitgendre, Anne Cauchi (FP2E)

Guillaume Gay, Sébastien Denys, Laure Déléry (INERIS)

Confidentialité : non

## **Base scientifique de l'évaluation des risques sanitaires relatifs aux agents pathogènes**

Rédacteurs principaux : Laure Déléry

INERIS *unité Evaluation des Risques Sanitaires*

Contributions à ce rapport : Roseline Bonnard

INERIS *unité Evaluation des Risques Sanitaires*



## TABLE DES MATIERES

<b>1. ANALYSE DES DONNÉES DISPONIBLES DANS LA LITTÉRATURE.....</b>	<b>8</b>
1.1. Les agents pathogènes dans les boues non traitées issues du traitement des eaux usées .....	8
1.1.1. Echantillonnage et analyse des boues.....	8
1.1.2. Contamination des boues non traitées.....	10
1.1.3. Synthèse.....	22
1.2. Les agents pathogènes après le traitement des boues .....	23
1.2.1. Contamination des boues traitées.....	23
1.2.2. Synthèse des données disponibles sur les traitements assurant une inactivation totale des agents pathogènes .....	30
1.2.3. Conclusion.....	33
1.3. Les agents pathogènes dans les boues stockées .....	33
1.3.1. Facteurs intervenant sur la survie des agents pathogènes lors du stockage .....	34
1.3.2. Résultats d'études récentes .....	35
1.3.3. Synthèse.....	37
1.4. Devenir environnemental des pathogènes des boues après épandage .....	37
1.4.1. Survie dans les sols.....	37
1.4.2. Transfert dans les différents milieux environnementaux.....	40
1.4.3. Contamination des animaux en pâture suite à un épandage de boues.....	48
1.4.4. Synthèse.....	49
1.5. Autres sources de pathogènes dans l'environnement .....	50
1.5.1. Effluents d'élevage .....	50
1.5.2. Autres sources de pathogènes.....	56
1.5.3. Synthèse.....	57
1.6. Données épidémiologiques .....	58
1.6.1. Exposition directe aux boues .....	58
1.6.2. Exposition aux eaux usées.....	60
1.6.3. Exposition au compost de boues .....	61
1.6.4. Les épidémies d'origine hydrique en France.....	61
1.6.5. Synthèse.....	62
1.6.6. Analyse.....	62

1.7. Effets sur la santé .....	64
1.7.1. Infection.....	64
1.7.2. Effets non infectieux.....	65
1.8. Synthèse générale sur l'état des connaissances actuelles .....	66
1.8.1. Constats .....	66
1.8.2. Identification des besoins de connaissance .....	68
<b>2. ÉVALUATION DES RISQUES SANITAIRES .....</b>	<b>70</b>
2.1. Présentation de la méthode d'évaluation des risques microbiologiques ....	70
2.2. Application aux épandages des boues d'épuration en France .....	72
2.2.1. Pathogènes d'intérêt sanitaire .....	72
2.2.2. Caractérisation du danger.....	75
2.2.3. Evaluation des expositions aux boues.....	77
2.2.4. Caractérisation des risques pour les boues liquides non traitées .....	83
2.2.5. Analyse des incertitudes de l'évaluation des risques .....	83
2.2.6. Conclusion .....	84
<b>3. CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>87</b>
<b>4. BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>88</b>
<b>5. LISTE DES ANNEXES.....</b>	<b>97</b>

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : concentrations (en poids humide) de quelques agents pathogènes dans les boues urbaines (EC 2001).....	10
Tableau 2 : agents pathogènes isolés des boues d'épuration urbaines (EC 2001 ; Dumontet et al. 2001). .....	11
Tableau 3 : charge des boues urbaines non traitées en bactéries pathogènes. ...	13
Tableau 4 : charge des boues urbaines non traitées en virus pathogènes. ....	15
Tableau 5 : charge des boues urbaines non traitées en parasites.....	16
Tableau 6 : charge des boues non traitées d'abattoirs en pathogènes.....	21
Tableau 7 : résultats de mesures microbiologiques de boues de laiteries (communication Fédération Nationale des Industries Laitières 2004).....	22
Tableau 8 : références des travaux français sur l'impact biologique des traitements des boues urbaines.....	24
Tableau 9 : traitements avancés pour la réduction du risque pathogène (EC 2001). .....	31
Tableau 10 : exigences d'assainissement (annexe II du document de travail européen « Traitement biologique des biodéchets 2 <sup>ème</sup> version » de février 2001).....	31
Tableau 11 : caractéristiques des procédés assurant une élimination des Entérovirus.....	32
Tableau 12 : caractéristiques des procédés assurant une élimination des salmonelles d'après les études citées.....	32
Tableau 13 : caractéristiques des procédés assurant une élimination des œufs d'helminthes d'après les études citées. ....	32
Tableau 14 : caractéristiques des procédés assurant une élimination des Giardia spp. d'après les études citées.....	33
Tableau 15 : résultats d'études de stockage de différentes boues.....	36
Tableau 16 : facteurs influençant la durée de vie des agents pathogènes dans le sol. ....	38
Tableau 17 : survie des pathogènes sur les végétaux (WHO 1989). ....	46
Tableau 18 : facteurs de variabilité du pouvoir pathogène des agents biologiques. ....	76
Tableau 19 : concentrations dans les boues liquides non traitées utilisées pour les calculs de risques d'infection aux 4 pathogènes d'intérêt sanitaire sélectionnés. ....	82
Tableau 20 : comparaison des flux de salmonelles et <i>Cryptosporidium</i> épanchés en France provenant soit des boues d'épuration soit des effluents agricoles. ....	82

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : méthode d'évaluation des risques pathogènes d'après ILSI (2000). ....	71
Figure 2 : schéma de principe de l'évaluation de l'exposition aux pathogènes contenus dans les boues. ....	77
Figure 3 : principales hypothèses de l'exposition. ....	81

## ACRONYMES

ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists
ADEME	Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie
AEP	Adduction d'Eau Potable
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
ASTEE	Association Scientifique et Technique pour l'Eau et l'Environnement
ATNC	Agent Transmissible Non Conventionnel
BAAE	Bronchioalvéolite allergique extrinsèque
CE	Communauté Européenne
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
CSHPF	Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France
ENV	Ecole Nationale Vétérinaire
ERP	Etablissement Recevant du Public
InVS	Institut national de Veille Sanitaire
JRC	Joint Research Committee
HPC	Heterotrophic Plate Count
MB	Matière Brute
MH	Matière Humide
MS	Matière Sèche
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health
NPP	Nombre le Plus Probable
NPPUC	Nombre le Plus Probable d'Unités Cytopathogènes
NRC	National Research Council
PCR	Polymerase Chain Reaction
PFU	unité formant plaque (unité d'analyse des virus par culture)
SPDE	Syndicat Professionnel des Distributeurs d'Eau
STEP	STation d'EPuration
SYPREA	Syndicat des Professionnels du Recyclage en Agriculture
UFC	Unité Formant Colonie
UFP	Unité Formant Plaque
UK WIR	United Kingdom Water Industry Research
US EPA	United States Environmental Protection Agency
VHA	Virus de l'Hépatite A
VTEC	<i>Escherichia coli</i> vérotoxique
WERF	Water Environment Research Foundation
WHO	World Health Organization (Organisation Mondiale de la Santé)

## 1. ANALYSE DES DONNEES DISPONIBLES DANS LA LITTERATURE

---

Ce chapitre propose, dans une première partie, un large bilan des microorganismes retrouvés dans des boues d'origine urbaine ou industrielle non traitées. Dans un second temps, le devenir des agents lors des traitements des boues, du stockage et de l'épandage est présenté par microorganisme. La notion de bruit de fond est également abordée. Enfin, les données de la littérature concernant des études épidémiologiques et les effets sur la santé des microorganismes des boues sont décrites en fin de chapitre.

### 1.1. LES AGENTS PATHOGENES DANS LES BOUES NON TRAITEES ISSUES DU TRAITEMENT DES EAUX USEES

La charge en agents pathogènes dans les boues résiduelles dépend de plusieurs facteurs qui expliquent la variabilité des données collectées dans la littérature. Parmi ceux-ci, on distingue (Ganière et Legeas 1997) :

- la nature des activités (domestiques et/ou industrielles) raccordées au réseau,
- l'état de santé et le nombre des populations humaines ou animales raccordées au réseau,
- la nature du réseau d'assainissement (unitaire ou séparatif),
- le type de système épuratoire mis en œuvre et l'influence des saisons sur son fonctionnement,
- les méthodes et techniques d'échantillonnage et de dénombrement des agents pathogènes.

Les agents pathogènes des eaux usées se concentrent dans les boues lors des procédés de traitement des effluents. Cette concentration se produit, soit par décantation directe, soit par adsorption sur les matières en suspension de l'effluent.

#### 1.1.1. ECHANTILLONNAGE ET ANALYSE DES BOUES

En ce qui concerne la stratégie d'échantillonnage des pathogènes dans les boues, différents points ont été étudiés dans l'étude NANCIE (2000) : préparation des prélèvements de boues, homogénéité de la distribution des germes dans les boues, variations temporelles, durée de conservation, reproductibilité et répétabilité des techniques analytiques. Concernant spécifiquement les œufs d'helminthes, on consultera les résultats de travaux de 2003 (Gaspard et Schwartzbrod 2003). En outre, le délai entre le prélèvement de l'échantillon et l'analyse est également important. Le symposium HORIZONTAL<sup>1</sup> de Lille (2005) a aussi apporté des recommandations (mise au froid à l'arrivée et réalisation des analyses au mieux dans les 2 jours) (communication J Cabaret 21/04/2005).

---

<sup>1</sup>Programme européen ayant comme objectif l'harmonisation des méthodes d'échantillonnage et d'analyse de différents polluants (dont les agents biologiques *E. coli*, *Salmonella*, *Enterococci*, *Clostridium perfringens* et les œufs d'helminthes viables) dans les boues, les sols et les biodéchets traités. <http://www.ecn.nl/library/horizontal>

Plusieurs travaux français ont eu pour objectif de mettre au point des techniques d'isolement, de dénombrement, voire d'étude de la viabilité des pathogènes dans les boues :

- Gaspard (1995) : recherche des œufs d'helminthes dans les boues d'épuration urbaines et analyse de la viabilité des œufs de nématodes,
- Thiriat (1998) : recherche des kystes de *Giardia* dans les boues d'épuration urbaines et étude de leur viabilité,
- Cadiergues (2000) : recherche des Entérovirus et des bactériophages dans les boues d'épuration urbaines,
- NANCIE (2000) : sélection de la méthode FCIS (Filtration, Chromatography gel filtration, Immunofluorescence and Staining) pour le dénombrement des *Giardia*, optimisation de la méthode EPA pour le dénombrement et l'étude de la viabilité des œufs d'helminthes dans les boues urbaines,
- Monpoeho (2001) : recherche des Entérovirus et du VHA dans les boues d'épuration urbaines,
- Vernozy-Rozand (2001) : recherche des *E. coli* vérotoxiques dont le sérotype O157 : H7 dans des matrices environnementales (effluents d'élevage et boues de STEP),
- Garrec (2003) : recherche des *Listeria monocytogenes* dans les boues d'épuration urbaines, étude de leur viabilité,
- Madeline (2003) et Moussavou-Boussougou (2004) : tests de viabilité parasitaire.
- Vansteelant (2004) : étude des méthodes d'extraction des *E. coli* et entérocoques fécaux dans les boues urbaines et d'autres milieux environnementaux (sol, végétaux, lisiers, effluents).

Par ailleurs, un programme triannuel de recherche (2000-2002) sur les pathogènes des boues, réalisé par l'UK WIR (UK Water Industry Research Ltd) et financé par le ministère de l'Agriculture, de l'Environnement, et par l'Agence de l'environnement anglaise, a comporté une première phase de mise au point de méthodes de détection des pathogènes dans les boues. Les agents biologiques étudiés étaient *E. coli* O157, *Salmonella seftenberg*, *S. dublin*, *S. enteritidis*, *S. thyphimurium*, *Campylobacter jejuni* et *C. coli*, *Listeria monocytogenes* (Scott A), *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia* et les Entérovirus (UKWIR 2000).

Les techniques analytiques normalisées pour isoler et dénombrer les agents biologiques dans les boues sont actuellement au stade du développement au niveau français et européen.

Trois normes expérimentales sont disponibles auprès de l'AFNOR :

- Dénombrement des *Salmonella* - Méthode de dénombrement en milieu liquide (méthode du Nombre le Plus Probable - NPP)- XP X33-018 (février 2004),
- Dénombrement des *E. coli* Bêta glucuronidase positive - Méthode miniaturisée en milieu liquide - XP X33-019 (février 2004).
- Dénombrement et viabilité des œufs d'helminthes parasites dans les boues, méthode par une technique de triple flottation NF XP X 33-017 (juillet 2004)

Pour *Listeria monocytogenes*, la norme NF V08-055 (1997) est proposée en référence des documents pour l'homologation des matières fertilisantes et supports de culture (Guide pour la constitution des dossiers de demande

d'homologation Matières fertilisantes et supports de culture. 2003). C'est une norme d'hygiène alimentaire.

Des essais interlaboratoires sont en cours au niveau national afin de proposer un projet de norme applicable à la détection des Entérovirus dans les boues par culture cellulaire (Madeline 2003a).

Les résultats du projet européen HORIZONTAL (DG ENVIRONMENT et JRC) sont très attendus concernant la matrice « boue ».

### 1.1.2. CONTAMINATION DES BOUES NON TRAITEES

La définition des boues « non traitées » est présentée dans le glossaire (voir l'introduction générale).

Une recherche bibliographique dans la littérature internationale a été réalisée. Les études portant sur des installations françaises ont été privilégiées afin d'avoir des données représentatives des situations nationales (nature des activités et état de santé des populations raccordées, système épuratoire, taille des installations).

#### 1.1.2.1. BOUES URBAINES

La plupart des agents pathogènes des eaux usées est concentré dans les boues pendant la décantation primaire. Même les virus qui ne sont pas suffisamment lourds pour sédimenter se retrouvent dans les boues primaires à cause de leur forte affinité pour les particules.

Les boues biologiques sont ensuite produites lors du traitement biologique des eaux usées décantées. Là encore, la charge en agents pathogènes dépend des concentrations initiales dans les eaux usées, de la survie, recroissance pendant les traitements, de l'association des agents avec la boue, du temps de séjour des boues et de la technique d'extraction des pathogènes des boues utilisée.

La DG Environnement de la Commission européenne (EC 2001) a établi une mise à jour récente des organismes pathogènes dans les boues d'épuration urbaines (tableau 2 en page suivante).

D'après le rapport européen (EC 2001), les concentrations (en poids humide) dans les boues urbaines sont de l'ordre de grandeur suivant :

Agent pathogène	Concentrations (en poids humide) dans les boues urbaines
<i>Salmonella</i>	$10^2-10^3 \text{ g}^{-1}$
Entérovirus	$10^2-10^4 \text{ g}^{-1}$
<i>Giardia</i>	$10^2-10^3 \text{ g}^{-1}$
<i>Ascaris</i>	$10^2-10^3 \text{ g}^{-1}$
<i>Toxocara</i>	$10-10^2 \text{ g}^{-1}$
<i>Taenia</i>	$5 \text{ g}^{-1}$

Tableau 1 : concentrations (en poids humide) de quelques agents pathogènes dans les boues urbaines (EC 2001).

BACTERIES	VIRUS	HELMINTHES	PROTOZOAIRE	CHAMPIGNONS	LEVURES
<i>Salmonella spp.</i>	Poliovirus	<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Candida spp.</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coxsackievirus	<i>Trichuris sp.</i>	<i>Cyclospora cayetensis</i>	<i>Phialophora richardsii</i>	<i>Trichosporon</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	Echovirus	<i>Hymenolepis sp.</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Campylobacter spp.</i>	Parvovirus	<i>Taenia saginata</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Tricophyton spp.</i>	
<i>Clostridium botulinum</i>	Adenovirus	<i>Toxocara (canis et cati)</i>	<i>Sarcocystis spp.</i>	<i>Epidermophyton spp.</i>	
<i>Clostridium perfringens</i>	Reovirus	<i>Diphyllobothrium latum</i>	<i>Cryptosporidium parvum</i>		
<i>Shigella spp.</i>	Virus de l'hépatite A, C et E	<i>Echinococcus granulosus</i>	<i>Encephalitozoon intestinalis</i>		
<i>Mycobacterium spp.</i>	Rotavirus	<i>Ancylostoma duodenale</i>	<i>Vittaforma corneae</i>		
<i>Staphylococcus (souches coagulase positives)</i>	Astrovirus	<i>Necator americanus</i>			
<i>Streptococcus (souches beta hémolytiques)</i>	Calicivirus				
<i>Escherichia coli (souches entéropathogènes)</i>	Coronavirus				
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Norwalk-like calicivirus				
<i>Bacillus anthracis</i>	Virus adénoassociés				
<i>Vibrio spp.</i>	Virus Influenza				
<i>Leptospira spp.</i>	Polyomavirus (JC et BK)				
<i>Aeromonas mobiles</i>					
<i>Arcobacter spp.</i>					
<i>Brucella spp.</i>					

Tableau 2 : agents pathogènes isolés des boues d'épuration urbaines (EC 2001 ; Dumontet et al. 2001).

D'après les données disponibles en France métropolitaine pour les parasites *Ascaris*, *Toxocara* et *Taenia*, ces chiffres sont surestimés d'un facteur 10 à 100 pour *Ascaris*, d'un facteur 10 pour *Toxocara* et pour le *Taenia* d'un facteur 5 (communication J Cabaret 21/04/2005).

Les données collectées dans différentes études de la littérature sont présentées dans les tableaux suivants (tableau 3 à tableau 5).

Les charges sont dispersées en fonction des activités raccordées à la station de traitement, de l'état de santé des populations au moment des mesures (Straub, Pepper et al. 1993).. Par ailleurs, on notera que, pour certains agents, on ne dispose que d'une seule étude ce qui fragilise leur représentativité.

La présence d'*Astrovirus* dans les boues a été démontrée récemment de manière qualitative (Chapron 2000; Gerba 2002).

L'analyse de ces données montre que les valeurs de contamination des boues non traitées sont hétérogènes et parcellaires :

- pas de données concernant des contaminations des eaux brutes qui sont très inégales d'un site à l'autre, a fortiori les concentrations dans les boues (quelque soit le traitement qu'elles subissent),
- pas d'information systématique pour tous les types de boues (primaires, secondaires, mixtes, biologiques),
- expression des résultats pour un même microorganisme différente suivant la technique de mesure (milieu liquide/solide),
- pas de données pour certains organismes.

#### 1.1.2.1.1. Bactéries

La charge en bactéries est très variable en fonction de l'espèce de l'agent biologique et du type de boue (primaire, mixte, biologique...) considéré.

Les salmonelles sont fréquemment isolées dans les boues non traitées à des densités atteignant  $10^3$  à  $10^5$ /g MS. L'étude NANCIE (2000) a été réalisée sur un an (4 campagnes de mesures) tandis que l'étude AGHTM (2002) a seulement été menée sur une campagne, en hiver. L'étude AGHTM a réalisé une intercomparaison des analyses de salmonelles et précise que les résultats obtenus sont hétérogènes, avec une déviation standard relativement importante.

Les données concernant les boues liquides et pâteuses sont du même ordre de grandeur, comprises entre un niveau non détectable (<1 UFC/4 g MS) et une concentration maximum mesurée d'environ 4 log UFC/g MS (NANCIE 2000 ; AGHTM 2002).

La présence de Campylobacter spp. dans les boues peut atteindre  $10^4$  NPP/100 mL (Jones 1990). La contamination de boues activées (Koenraad 1994) a été reliée à la présence d'abattoirs de volailles raccordés. Une variation saisonnière des concentrations des eaux usées a été observée.

Aeromonas hydrophila et Pseudomonas aeruginosa sont des bactéries naturellement présentes dans les milieux aquatiques ; elles sont opportunistes pour l'homme, c'est à dire qu'elles sont pathogènes pour les populations immunodéprimées. Elles ont été mesurées en quantités assez importantes dans les boues (jusqu'à  $10^7$  UFC/g humide soit environ  $10^7$  UFC/mL pour des boues liquides). Les *Aeromonas spp.* sont naturellement présentes en quantités

importantes dans les eaux qui constituent leur principal réservoir. Elles ont ainsi été mesurées à des concentrations comprises entre  $10^3$  et  $10^6$  UFC/mL (Hydro-M 2004).

BACTERIES	Charge	Type de boue	Référence
<i>Salmonella spp.</i>	10-8 800 000/kg	non précisé	CSHPF1998
	30 NPP/L	boues primaires	ADEME 1994
	100 -1 000/g MS	boues primaires	ADEME1999
	max 1000 /L	boues mixtes	ADEME 1999
	4 Log UFC/g MS	boues biologiques	NANCIE 2000
	5 Log /g MS	boues non traitées	cité par Dumontet 2001
	>200->2400 NPP/100 mL	boues non traitées	Jones et al. 1980
	max 40 NPP/4 g	boues primaires/boues biologiques	Wanatabe et al. 1997
	6,55-10,4 Log NPP/g	boues non traitées	Jimenez et al. 2001
<i>Salmonella typhi</i>	11 000-19 000 000/L	boues non traitées	cité par Jimenez et al. 2002
<i>Aeromonas hydrophila</i>	$10^7$ UFC/g (poids humide)	boues primaires	cité par Dumontet et al. 2001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3 300 /g MS	boues non traitées	cité par Dumontet 2001
	1 100-170 000/g	boues non traitées	cité par Jimenez et al. 2002
<i>Listeria spp.</i>	53-28 000 NPP/g MS	boues biologiques	Garrec 2003
	1,1 - 35 NPP/g MS	boues mixtes	Garrec 2003
	< 7 à 50 000 NPP/g MS	boues non traitées	Paillard 2003
<i>Listeria monocytogenes</i>	5,1-2 200 NPP/g MS	boues biologiques	Garrec 2003
	40-6 300 NPP/g MS	boues biologiques	Garrec 2003
<i>Campylobacter spp.</i>	my 110 /100 mL max 930 000	boues non traitées	ADEME 1999
	my 930 /100 mL max 9 300	boues activées	ADEME 1999
	1,5 - 4,8 Log/100 mL	boues activées	Koenraad 1994
	1,5 - 4,4 Log/100 mL	boues activées sédimentées	Koenraad1994
	1681 NPP/g	boues primaires	Stampi et al. 1999 cité par Garrec 2003
	194 à $4,2 \cdot 10^4$ NPP/100 mL	boues non traitées	Jones et al. 1990
<i>Shigella spp.</i>	220 /g	boues non traitées	cité par NRC 1996
	7 Log / g MS	boues non traitées	cité par Dumontet 2001
<i>Mycobacterium spp.</i>	1489 - 3173 /g MS	boues biologiques	ADEME 1999
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1 000 000 /g MS	boues primaires	Straub 1993
<i>Staphylococcus aureus</i>	150 NPP /g	boues primaires	Rusin 2003
<i>Clostridium perfringens</i>	5,7 log UFC/g	boues non traitées	ADEME 1999
<i>Yersinia spp.</i>	6 Log/g MS	boues non traitées	cité par Dumontet 2001
<i>Klebsiella spp.</i>	7 Log / g MS	boues non traitées	cité par Dumontet 2002

Tableau 3 : charge des boues urbaines non traitées en bactéries pathogènes.

Listeria monocytogenes est bien connue pour son implication dans des toxi-infections alimentaires. Elle est présente dans les boues en concentrations de l'ordre de  $10^3$  NPP/g MS (Garrec, 2003).

Staphylococcus aureus a été détecté dans des boues primaires épaissies (Rusin et al. 2003).

Yersinia enterocolitica a été isolée dans 51% d'échantillons de boues (n=35) ; 116 souches ont été détectées dans l'étude ; les sérogroupes O3, O8 et O9 responsables de la plupart des cas de yersinioses humaines n'ont pas été détectées (Langeland 1983).

Les E. coli vérotoxiques (VTEC caractérisée par la présence du gène stx par PCR) ont été détectées dans 30% des échantillons testés (n=480) provenant de boues de l'aérateur, du clarificateur et du réservoir à boues issues de 23 stations d'épuration (Vernozy-Rozand, Montet et al. 2002). Huit souches VTEC ont pu être isolées parmi lesquelles une souche O26 (clarificateur), une souche O55 (réservoir à boues) et une souche O157:H7 (clarificateur).

La présence de légionelles dans les effluents des stations d'épuration est actuellement très peu renseignée dans la littérature. Les *Legionella spp.* ont été mesurées par PCR dans les eaux usées brutes et traitées (primaire et secondaire) d'une station d'épuration américaine (Palmer 1993). Les résultats de cette étude indiquent la présence prédominante de bactéries non *L. pneumophila* tout au long du procédé de traitement des eaux usées sans réduction notable des populations. *L. pneumophila* séro-groupe 1 a été cultivée en grande quantité à partir des boues d'un décanteur de station d'épuration d'une industrie agro-alimentaire (Gregersen, Grunnet et al. 1999).

#### 1.1.2.1.2. Virus

Pour rappel, les principales familles de virus pathogènes pour l'homme susceptibles d'être rencontrées dans le milieu hydrique sont (ADEME, 1999) :

- Picornaviridae (Entérovirus et VHA),
- Reoviridae (Réovirus et Rotavirus),
- Caliciviridae (Calicivirus, Astrovirus),
- Coronaviridae (Coronavirus),
- Toroviridae (Coronavirus-like),
- Adenoviridae (Adénovirus).

D'après Cadiergues (2000), la recherche des virus entériques dans les boues d'épuration est généralement limitée à la mise en évidence des *Entérovirus*. On constate que 100% des échantillons de boues non traitées contiennent des virus entériques. Dans les boues n'ayant subi aucun traitement, la présence d'Entérovirus varie de quantités non détectables à  $10^5$  particules par 10 g (MS) ou par 100 mL (MH) de boue.

A l'entrée de la filière de chaulage, Monpoého (2001) a observé de faibles charges virales pendant la période estivale et de fortes charges au printemps.

VIRUS	Charge	Type de boue	Référence
Virus entériques	3 Log UFP/L	boues primaires	ADEME 1994
	2-3 Log UFP/L	boues biologiques	ADEME 1994
	3 Log UFP/L	boues mixtes	ADEME 1994
	3800 -12 000/L	boues primaires	CSHPF 1998
<i>Enterovirus</i>	max 3200 UFP/L	boues non traitées	cité par Cadiergues 2000
	110 UFP/L	boues biologiques	cité par Cadiergues 2000
	1700 UFP/L	boues mixtes	cité par Cadiergues 2000
	<3 - 2242 NPPUC/10 g MS	boues non traitées	Cadiergues 2000
	28-901NPPUC/g MS moyenne 280 NPPUC/g MS	boues biologiques épaissies	Monpotheo 2001
	100-1 000/kg MS	boues non traitées	ADEME 1999
	28 000/kg MS	boues non traitées	Soares et al. 1994 cité par UKWIR 2003
VHA	100-1 000/kg MS	non précisé	ADEME 1999
Adénovirus	0-46 000 TCID50	non précisé	ADEME 1999

Tableau 4 : charge des boues urbaines non traitées en virus pathogènes.

## 1.1.2.1.3. Parasites

En ce qui concerne les **helminthes**, la contamination des boues est quasi systématique. On observe une grande diversité dans la hiérarchie des proportions des genres d'helminthes (même au sein d'un même pays) (Cabaret, Geerts et al. 2002).

La densité des *Ascaris* dans les boues non traitées varie d'un niveau non détectable à plus de  $10^3$  œufs par 10 g (MS) ou par 100 mL de boue (Cadiergues 2000). Cette charge varie non seulement en fonction de la taille des stations d'épuration (nombre de personnes raccordées) et de l'organisation du réseau, mais aussi en fonction des activités raccordées comme les abattoirs.

Gantzer (2001) a déterminé des concentrations moyennes en œufs de nématodes viables comprises entre 2 et 45 œufs /10 g MS pour les échantillons de boues non traitées analysés lors de 4 campagnes. Les genres représentés appartiennent aux genres suivants : *Ascaris* (34,8%) > *Trichuris* (37,7%) > *Capillaria* (13,8%) > *Toxocara* (13,7%).

Parmi les 63 échantillons de boues non traitées exploités par Vansteelant (2004) d'après des analyses existantes réalisées par le laboratoire vétérinaire départemental, 25% présentent des contaminations comprises entre 10 et 12 œufs /g MS, 16% des contaminations comprises entre 1 et 4 œufs /g MS et 59% ne contiennent aucun œuf.

PARASITES	Charge	Type de boue	Référence
Helminthes	1000 -10 000/kg	boues primaires	CSHPF 1998
	0 œufs viables/ 10 g MS	boues aération prolongée	NANCIE 2000
	2/10 g MS	boues biologiques	cité par Cadiergues 2000
	24 /10 g MS	boues primaires	cité par Cadiergues 2000
	44 à 77 /10 g MS	boues urbaines	Stien 1989 cité par Schwartzbrod et al. 1997
	104-640 /10 g MS	boues urbaines	Barbier 1989 cité par Cabaret et al. 2002
	< 24 /10 g MS (85 %) max 90 /10 g MS	boues urbaines	Gaspard 1995
	60-240 /100 g	boues non traitées	Gaspard et al., 1997
	65-120 œufs/g	boues non traitées	Jimenez et al. 2001
Œufs cestodes	0-1000 œufs/L	boues primaires	ADEME 1994
œufs nématodes	2-45 œufs viables /g MS	boues non traitées	Gantzer, 2001
	10-10 000 œufs/L	boues primaires	ADEME 1994
Œufs <i>Toxocara sp.</i>	10-50/kg	boues biologiques	ADEME 1994
	40-140/100 g MS	non précisé	ADEME 1999
	14/10g	boues non traitées	Barbier 1989 cité par Cabaret et al. 2002
	10-100 /g MS	boues primaires	Straub 1993
Œufs <i>Trichuris sp.</i>	10-50/kg	boues biologiques	ADEME 1994
	12-55/100 g MS	non précisé	ADEME 1999
	290/10 g	boues non traitées	Barbier 1989
Œufs <i>Hymenolepis sp.</i>	100 /g MS	boues primaires	Straub 1993
	10-50/kg	boues biologiques	ADEME 1994
Œufs <i>Hymenolepis sp.</i>	0-12 /100 g MS	non précisé	ADEME 1999
	5-10/kg	boues biologiques	ADEME 1994
Œufs <i>Taenia sp.</i>	100/100 mL	boues non traitées	Barbier 1989
<i>Taenia saginata</i>	37-1020 / 100 g MS	non précisé	ADEME 1999
Œufs <i>Ascaris spp.</i>	50-100/kg	boues biologiques	ADEME 1994
	67-380/100 g MS	non précisé	ADEME 1999
	38/10 g	boues non traitées	Barbier 1989 cité par Cabaret et al. 2002
	100-1000 /g MS	boues primaires	Straub 1993
Kystes <i>Giardia sp.</i> viables	max 4,15 Log / 10 g MS	boues biologiques	NANCIE 2000
	5,4 kystes viables / 10 g MS	boues flottées	Thiriart 1998
Kystes <i>Giardia sp.</i>	6,3 kystes viables / 10 g MS	boues primaires	Thiriart 1998
	100-10 000 kystes/L	épaissies	Thiriart 1998
	1200 à 85000/100 g	boues primaires	ADEME 1994
	7,4-113 000 /g MS viabilité nulle	boues mixtes	Pépin 83, cité par Thiriart 1998
	2700-14 300 /g MS viabilité 1,7 %	boues mixtes	Thiriart 1998
	moy 14 / g MS <0,8-37 /g MS	boues secondaires	Thiriart 1998
	7 700-3 000 000 /kg	boues mixtes	Chauret 1999
<i>Giardia lamblia</i>	10-10 000/L	boues primaires	CSHPF1998
	my 8860 /100 g MH	non précisé	ADEME 1999
	(1,9-5,7)x10 000/g	boues digérées déshydratées	Liver 2003
<i>Cryptosporidium sp.</i>	(1,9-5,7)x10 000/g	boues non traitées	Thiriart 1997
	moyenne 16,5 /g MS <0,8-119 /g MS	boues mixtes	Chauret 1999

Tableau 5 : charge des boues urbaines non traitées en parasites.

Une étude de la contamination parasitaire de boues a été réalisée sur des boues activées faible charge provenant de 20 stations d'épuration localisées dans le Nord-Ouest de la France et caractérisées par des capacités comprises entre 1000 et 20 000 Equivalent Habitant (EH) (Schwartzbrod et Banas 2003). L'analyse de 110 échantillons de boues non traitées montre une contamination de 72,6% en œufs d'helminthes (64,5% pour les œufs de nématodes viables). Les œufs appartiennent principalement à la famille des nématodes (plus de 90%) et au genre des *Toxocara* à plus de 70% (suivi par les genres *Capillaria* > *Trichuris* > *Ascaris* - de l'ordre de 1% -). La concentration en œufs viables est comprise entre <1 et 28 œufs /4 g MS. On notera cependant que ces résultats sont le reflet de la méthode d'analyse utilisée (US EPA) qui ne permet pas de détecter les *Taenia* par exemple. Les excès d'*Ascaris* dans les boues posent question car il n'y en a pratiquement pas dans la population (communication J Cabaret 21/04/2005).

Le *Taenia* représente probablement le principal problème en santé humaine et animale puisqu'il est pratiquement retrouvé dans toutes les boues analysées sous les climats tempérés (Cabaret, Geerts et al. 2002). J. Cabaret (communication personnelle, 2004) recommande la concentration moyenne la plus probable de 3 œufs/ g MS dans les boues liquides non traitées avec une viabilité comprise entre 10 et 40%.

La viabilité des œufs, qui est indispensable pour pouvoir évaluer le risque sanitaire, est déterminée pour les nématodes et plus récemment pour les cestodes (Madeline, Ballandonne et al. 2003). Pour les boues n'ayant subi aucun traitement, la viabilité des helminthes serait comprise entre 27 et 94% (cité par Cadiergues 2000).

En ce qui concerne les **protozoaires**, on retrouve les kystes de *Giardia* en quantités assez importantes dans les boues non traitées (primaires, secondaires et mixtes) ; la viabilité moyenne est estimée à 4% (Thiriat 1998).

Les données de contamination en oocystes de *Cryptosporidium* spp. dans les boues non traitées sont rares. Les seuls résultats trouvés dans la littérature concernent des boues mixtes sans étude de la viabilité (Chauret, Springthorpe et al. 1999) avec une importante variabilité des concentrations observées.

Le géotypage de *Cryptosporidium parvum* dans des échantillons de boues de 12 stations d'épuration a permis d'identifier le géotype 2 qui est commun à l'homme et au bétail (Rimhanene-Finne, Ronkainen et al. 2001).

Pour plus d'information sur le devenir des protozoaires dans les stations d'épuration, on consultera l'article de l'encyclopédie de microbiologie environnementale (Schwartzbrod et al. 2002).

#### 1.1.2.1.4. Autres agents

Les effluents produits dans les abattoirs reliés à des stations d'épuration urbaine (tout comme les stations d'épuration industrielle autonome) pourraient potentiellement contenir l'agent infectieux de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) (maladie de la vache folle) ou prion (AFSSA 2003a). Cependant, la réglementation concernant les règles d'abattage, l'âge des animaux autorisés à entrer sur les chaînes d'abattage et les exigences spécifiques pour le traitement des effluents d'abattoirs (Règlement CE n° 1774/2002 du Parlement européen et du Conseil du 3 octobre 2002 établissant des règles sanitaires applicables aux

sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine) diminuent de façon importante le risque de retrouver des prions dans l'environnement.

#### 1.1.2.2. BOUES INDUSTRIELLES

Le risque pathogène concerne essentiellement les industries agro-alimentaires traitant de produits animaux comme par exemple les abattoirs et les charcuteries et les industries fabriquant des produits laitiers (principalement les fromageries). D'après l'étude française de Renouf (1995), on dispose de peu de données sur la présence de pathogènes dans les effluents bruts et encore moins dans les boues non traitées spécifiques des industries agro-alimentaires.

Pour les autres types de boues, la présence de pathogènes pour l'homme est extrêmement faible. Néanmoins, les boues organiques produites par les secteurs de la distillerie et amidonnerie/féculerie constituent un milieu de développement favorable à certains micro-organismes thermophiles comme les levures et les champignons. Elles sont susceptibles de poser un risque sanitaire par inhalation en fonction des conditions de stockage, de reprise des tas et d'épandage des boues. Suivant la sensibilité des personnes exposées (ce sont des pathogènes « opportunistes ») elles peuvent poser un problème infectieux, allergique ou toxique qu'il est difficile d'évaluer en l'état actuel des connaissances. De même, les boues produites lors de la production d'eau potable sont susceptibles de contenir des pathogènes extraits lors du traitement de l'eau naturelle (EC 2001). Mais ce sont des boues très faiblement chargées en comparaison avec les boues provenant du traitement des eaux usées. Un travail interne de la commission Distribution de l'eau de l'ASTEE a permis de rassembler des données sur la production et les filières d'élimination des boues de potabilisation de 384 unités de production françaises. La quantité totale de boues produites représente 85 000 t MS/an. Seules 6% des unités (qui tendent à être représentée par les grosses unités) pratiquent l'épandage agricole. Dans l'échantillon d'unités étudié, les traitements identifiés subis par les boues destinées à l'épandage sont la déshydratation suivie par un chaulage et la déshydratation suivie d'une formulation avec un compost.

##### 1.1.2.2.1. Filière viande : études microbiologiques des effluents d'abattoirs

La microbiologie des effluents d'abattoirs est un sujet peu étudié en France.

Au niveau international, les données disponibles concernant les caractéristiques bactériologiques des effluents et boues d'abattoirs concernent principalement les salmonelles (Fransen 1996).

L'étude de Fransen (1996) a porté sur 5 abattoirs de volailles et 8 de porcs situés en Belgique et aux Pays-Bas. Le nombre moyen d'animaux abattus quotidiennement variait entre 48 000 et 120 000 pour les volailles et 3 000 et 7 000 pour les porcs. Des échantillons (n=5) ont été prélevés au niveau de chaque abattoir soit sur des boues floculées soit sur des boues activées. Les analyses microbiologiques ont porté sur les entérobactéries, les entérocoques, les *Clostridium* sulfite-réducteurs, les *Campylobacter jejuni* et *C. coli*, les salmonelles (avec identification des colonies), *Yersinia enterocolitica* (avec identification des colonies). La prévalence de *C. jejuni/coli* était de 100% dans les boues floculées de volailles, de 50% dans les boues floculées de porcs et de 20% dans les boues activées de porcs. *Y. enterocolitica* est retrouvée dans 29% des boues floculées et dans 48% des boues activées. Les sérotypes identifiés sont O3 et O9.

Des salmonelles ont été détectées dans 84% des boues floculées de volailles et respectivement dans 90% et 92% des boues floculées et activées de porcs. Les bactéries isolées appartiennent aux sérogroupes B, C, D ou E.

Dans l'étude de l'INRA-ENVIT (2002), six abattoirs de faible capacité et raccordés à un système d'épuration communal ont été étudiés. Quatre campagnes de prélèvements réparties entre février et octobre ont été organisées pour chaque abattoir à différents stades (effluent brut, effluent pré-traité, effluent traité et boues non traitées issues des traitements physico-chimiques ou biologiques). Seuls 3 abattoirs ont fait l'objet de prélèvements de boues.

Les boues issues des traitements physico-chimiques ou biologiques, soit 4 ou 5 prélèvements ponctuels par abattoir, ont été analysées pour les pathogènes *Pseudomonas spp.*, les staphylocoques, les salmonelles, les *Listeria spp.*, et les *Yersinia spp.* Les *E. coli* O157 ont été recherchées à partir des différents prélèvements.

Les *Pseudomonas spp.* se retrouvent en quantités assez importantes dans les boues (6 à 8 log UFC/ g de MS selon le type de boue) par rapport aux staphylocoques (4 à 6 log UFC/ g de MS selon le type de boue). Les niveaux de contamination en salmonelles mis en évidence sont faibles ainsi que ceux en *Listeria spp.* Aucune *Yersinia* n'a été isolée des différents prélèvements réalisés et étudiés. Sur 76 souches d'*E. coli* sorbitol négatives isolées à partir des différents types de prélèvements, 22 souches ont été confirmées O157 positives dont uniquement 7 dans les boues (12 prélèvements sur 96).

Une étude de contamination des rejets des installations d'épuration des établissements de la filière viande (Hydro-M 2004) a porté sur 5 abattoirs spécialisés bovins et bovins/porcs équipés d'une station d'épuration propre. Un diagnostic microbiologique complet (lisiers, effluent brut, effluent amont bassin tampon, effluent aval bassin tampon, effluent traité rejeté, boues, milieu naturel amont, milieu naturel aval rejet) a été réalisé pour les entérobactéries, les coliformes totaux, les coliformes fécaux, *Escherichia coli*, *E. coli* O157, entérocoques, *Pseudomonas spp.*, salmonelles, *Listeria monocytogenes*, staphylocoques, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Mycobacterium paratuberculosis* et cryptosporidies.

Les résultats de l'étude de contamination des boues sont ainsi présentés dans le rapport :

- Seule une souche *E. coli* O157 a été isolée au niveau des boues d'un des abattoirs de bovins et jamais au niveau des lisiers/purins, de l'effluent traité ou dans le milieu récepteur ; le portage animal est donc réduit et/ou sa survie dans les effluents et donc dans l'environnement limitée ;
- La contamination en *Pseudomonas spp.* dans les boues varie de  $9,5 \cdot 10^3$  à  $9,5 \cdot 10^5$  UFC/mL ; la présence en quantités significatives dans l'effluent traité rejeté ( $10^6$ - $10^8$  UFC/ L) et dans la rivière en aval du rejet ( $10^2$ - $10^4$  UFC/mL) confirme une capacité de résistance dans le milieu aquatique ;
- De nombreux sérotypes différents de salmonelles ont été identifiés dans les échantillons de boues étudiés (*S. montevideo*, *S. Ohio*, *S. panama*, *S. caledon*, *S. thyphimurium*, *S. anatum*, *S. fayed*) ; les concentrations sont comprises entre  $10^2$  et  $10^3$  NPP/mL dans les boues ; dans le milieu récepteur, les concentrations

sont relativement faibles avec une influence saisonnière notable en été (augmentation) ;

- *Listeria monocytogenes* est peu présente dans les boues (4,8 à 21 NPP/mL) ; elle est présente dans 50 % des échantillons d'eau de rivière en concentration de l'ordre de quelques NPP/mL ;
- Les staphylocoques sont présents dans les boues ( $10^4$  UFC /mL en moyenne) et dans l'environnement aquatique en concentration « relativement faible » (2,7 à 77 UFC/mL) ;
- Aucune souche de *Yersinia* n'a été isolée ;
- *Campylobacter (jejuni et/ou coli)* est très rarement retrouvé dans les boues (une seule campagne au niveau d'un des abattoirs a permis de mesurer une concentration de  $3.10^2$  NPP/mL) ; la même campagne montre sa présence en amont et en aval du point de rejet ; aucune variation saisonnière n'est identifiée ; la fréquence de formes viables mais non cultivables pour ce genre bactérien pourrait en partie expliquer les résultats ;
- *Aeromonas hydrophila* est présente en quantités importantes dans les boues ( $10^4$ - $10^7$  UFC /mL) et dans le milieu naturel aquatique ( $10^2$ - $10^6$  UFC /mL) qui constitue son principal réservoir ; sa présence en quantité significative dans l'effluent traité rejeté ( $10^6$ - $10^7$  UFC /mL) confirme sa capacité de résistance dans l'environnement ;
- La contamination des effluents et du milieu récepteur par *Mycobacterium paratuberculosis* est « très faible » ;
- La recherche de cryptosporidies a permis de donner des résultats positifs uniquement pour 2 prélèvements effectués pour 2 abattoirs sur l'effluent brut lors de la première campagne ; le volume prélevé n'a peut être pas été suffisant pour détecter les parasites à l'analyse.

Le tableau 6 présente les données disponibles sur la charge des boues d'abattoir non traitées.

Aucune donnée sur la présence de virus dans les boues d'abattoirs n'a été trouvée dans la littérature.

#### 1.1.2.2.2. Secteur laitier

Un rapport ancien (J.U.V.E.N 1993) précise que les fréquences d'isolement des Salmonelles dans les boues de laiteries est faible, mais aucune donnée quantifiée n'est fournie.

En routine, les analyses microbiologiques concernent seulement les laits et portent sur les germes totaux (communication avec La Maison du Lait, A. Pecou 2004). Pour 91% des analyses récentes, la teneur en germes totaux est inférieure à 50 000 UFC/mL (97% < 100 000 UFC/mL).

Les pathogènes (*Staphylocoques*, *E. coli*, *Listeria sp.* et salmonelles) sont analysés suivant les régions au moment de la collecte, mais ne concernent a priori que les laits crus et leurs produits.

Agent pathogène	Concentration dans les boues non traitées	Sources
<i>Campylobacter jejuni</i> et <i>coli</i>	<2,8 à 7,3 log UFC/g MS boues flocculées et <2,8 à 4,7 log UFC /g MS boues activées  3.10 <sup>2</sup> NPP/mL	Fransen, 1996  HYDRO-M 2004
<i>Salmonella spp.</i>	Max 137,5 UFC /mL sur boues biologiques 125 UFC/mL sur boues physico-chimiques (58 % des prélèvements) 84 à 92 % selon le type de boues  10 <sup>2</sup> et 10 <sup>3</sup> NPP/mL	INRA ENVV, 2002  HYDRO-M 2004
<i>Listeria monocytogenes</i>	Max 125 UFC /mL sur boues physico-chimiques, 31 UFC/mL sur boues biologiques  4,8 à 21 NPP/mL	INRA ENVV, 2002  HYDRO-M 2004
<i>Pseudomonas spp.</i>	6-7 log UFC / g de MS boues physico-chimiques, 8 log UFC / g de MS boues biologiques  9,5.10 <sup>3</sup> à 9,5.10 <sup>5</sup> UFC/mL boues non traitées	INRA ENVV, 2002  HYDRO-M 2004
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>7</sup> UFC /mL	HYDRO-M 2004
<i>Yersinia spp.</i>	Aucune détectée  Aucune souche de <i>Yersinia</i> isolée	ENVV, 2002  HYDRO-M 2004
<i>Y. enterocolitica</i>	29 à 48 % selon le type de boues	Fransen, 1996
<i>Staphylococcus spp.</i>	5-6 logUFC / g de MS boues physico-chimiques, 4 logUFC / g de MS boues biologiques  10 <sup>4</sup> UFC /mL en moyenne	ENVV, 2002  HYDRO-M 2004

Tableau 6 : charge des boues non traitées d'abattoirs en pathogènes.

Quelques données de contamination des boues de laiteries ont été communiquées par la Fédération Nationale des Industries Laitières. Les résultats de 2 campagnes de mesures réalisées par le laboratoire CARSO, sans précisions, ni sur le lieu, ni sur les conditions de prélèvement, ont porté sur l'analyse :

- des œufs d'helminthes pathogènes viables (méthode par flottation),
- des *Entérovirus* (NPPUC),
- des coliformes thermotolérants (uniquement pour la première campagne, NPP),
- des *Staphylococcus aureus* (NPP),
- des spores de bactéries anaérobies sulfite-réductrices (uniquement pour la première campagne, comptage des colonies),
- des *Listeria monocytogenes* (uniquement pour la première campagne, NPP),
- des salmonelles (NPP).

Ils sont présentés dans le tableau suivant.

Paramètre mesuré	1 <sup>ère</sup> campagne (n=15 échantillons)	2 <sup>ème</sup> campagne (n= 11 échantillons)
Œufs d'helminthes pathogènes viables	Absence	Absence
<i>Entérovirus</i>	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	2/15 échantillons positifs (13%) 1300 et 11 /g MS	2/11 échantillons positifs (18%) 1600 et 88/ g MS
<i>Listeria monocytogenes</i>	2/15 échantillons positifs 14 et 33 /g MS	/
<i>Salmonella spp.</i>	3/15 échantillons positifs (20%) 10 ; 140 et 320 /g MS	Absence
Coliformes thermotolérants	13/15 échantillons positifs 2800 à 4,5.10 <sup>7</sup> /g MS	/
Bactéries anaérobies sulfito-réductrices	13/15 échantillons positifs 3700 et 4,4.10 <sup>5</sup> /g MS	/

Tableau 7 : résultats de mesures microbiologiques de boues de laiteries (communication Fédération Nationale des Industries Laitières 2004).

Le peu de données françaises disponibles sur les boues issues de laiteries tend à montrer une faible contamination en pathogènes, à un degré moindre que les boues issues d'abattoirs ou de stations d'épuration urbaines.

#### 1.1.2.2.3. Cas particulier de *Legionella pneumophila*

La présence de *Legionella pneumophila* dans les boues de lagunes du site Noroxo de Harnes a été vérifiée lors de l'épisode de cas groupés de légionelloses dans le Nord Pas- de- Calais (décembre 2003). Il a été démontré que la bactérie était apportée par les boues d'une station industrielle qui alimentait régulièrement la lagune.

#### 1.1.3. SYNTHÈSE

La contamination en agents pathogènes des boues n'ayant subi aucun traitement est quasi systématique, le procédé de traitement des eaux usées conduisant à leur agglomération dans les boues.

Les données rapportées dans la littérature sont assez variables du fait de nombreux facteurs conditionnant la contamination des boues (contamination des eaux usées, procédé de traitement des eaux et caractéristiques de fonctionnement etc...). Elles sont souvent difficilement comparables du fait qu'il existe peu de techniques de dénombrement normalisées et que les procédés dont sont issues les boues analysées sont divers et parfois peu renseignés.

Les résultats de contamination des différents types de boues non traitées (boue primaire, boue secondaire, boue mixte) sont peu nombreux au niveau français. Elles portent de manière prépondérante sur les boues de station d'épuration

urbaine, la contamination des boues d'abattoirs et des laiteries autonomes étant peu étudiée.

Il existe des pathogènes pour lesquels il n'existe peu ou pas de donnée de contamination des boues non traitées (endotoxines, *staphylococcus aureus*, *Vibrio spp.*, virus -Rotavirus, Calicivirus, Norovirus etc...-, *E. coli* pathogènes, *Pseudomonas spp.* *Cryptosporidium spp.*, mycobactéries, microsporidies, *Campylobacter spp.*).

Les techniques de dénombrement normalisées dans les boues sont disponibles pour *E. coli*, les salmonelles et les œufs d'helminthes au niveau français. Des projets sont en cours pour les Entérovirus.

## **1.2. LES AGENTS PATHOGENES APRES LE TRAITEMENT DES BOUES**

### **1.2.1. CONTAMINATION DES BOUES TRAITEES**

La définition des boues « traitées » est présentée dans le glossaire de l'introduction générale.

#### **1.2.1.1. BOUES URBAINES**

Pour renseigner la charge des boues urbaines traitées en agents pathogènes, le choix a été fait de sélectionner de préférence des données françaises : d'une part, pour leur représentativité nationale (population, type de traitement des eaux et des boues) et d'autre part, afin de réaliser un bilan des données disponibles.

Les caractéristiques des travaux utilisés sont récapitulés ci-dessous (tableau 8).

Les données exploitables sur les agents pathogènes concernent principalement les Entérovirus, les salmonelles, les *Listeria*, les œufs d'helminthes et les kystes de *Giardia*.

Les résultats reposent sur un nombre restreint de mesures. Leur interprétation est donc limitée, compte tenu de la variabilité naturelle des boues et des techniques d'analyses et d'échantillonnage utilisées.

Pour les autres pathogènes, les données ont été complétées par une recherche bibliographique.

##### **1.2.1.1.1. Entérovirus**

La recherche des virus (Monpoého 2001) a été réalisée d'une part par culture cellulaire (cellules BGM) pour mettre en évidence l'infectiosité des virus et d'autre part par biologie moléculaire pour la détection/quantification des génomes (RT-PCR TaqMan). L'extraction préalable des virus comprend une phase d'éluion, de concentration et de décontamination bactérienne et fongique.

L'essentiel de l'étude méthodologique de Cadiergues (2000) a porté sur la détection des Entérovirus infectieux dans les boues. Cette analyse se révèle très complexe car elle comporte différentes étapes et le rendement de récupération des Entérovirus est très faible. (Pour les autres virus -virus des hépatites, *Rotavirus*, *Astrovirus*- qui ne se développent pas ou mal sur cultures cellulaires, les techniques de biologie moléculaire constituent la seule alternative mais ne fournissent pas d'indication quant à l'infectiosité des particules virales.)

Nom	Année	Origine des échantillons étudiés	Traitement boue étudié	Agents biologiques étudiés
Gaspard (thèse)	1995	1 station + 98 échantillons issus d'une enquête nationale	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Stabilisation anaérobie mésophile + déshydratation</li> <li>➤ Chaulage</li> <li>➤ Lagunage</li> <li>➤ Compostage</li> </ul>	Œufs d'helminthes
Thiriat (thèse)	1998	10 stations	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Aération prolongée</li> <li>➤ Stabilisation anaérobie mésophile</li> <li>➤ Lagunage</li> <li>➤ Stabilisation aérobie thermophile</li> <li>➤ Stabilisation aérobie mésophile</li> <li>➤ Chaulage (chaux éteinte et chaux vive)</li> <li>➤ Séchage thermique</li> <li>➤ Compostage</li> </ul>	Kystes <i>Giardia</i> sp.
NANCIE	2000	20 stations (1 an de suivi = 4 campagnes)	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Aération prolongée</li> <li>➤ Lagunage</li> <li>➤ Stabilisation aérobie psychrophile</li> <li>➤ Stabilisation aérobie thermophile</li> <li>➤ Digestion anaérobie</li> <li>➤ Compostage (andain, silo fermé)</li> <li>➤ Condition<sup>t</sup> physico-chimique</li> <li>➤ Chaulage (chaux éteinte et chaux vive)</li> <li>➤ Condition<sup>t</sup> thermique</li> <li>➤ Séchage (direct/indirect)</li> <li>➤ Stockage</li> </ul>	Salmonelles Spores Clostridium Coliformes Entérocoques <i>Giardia</i> Œufs d'helminthes
Cadiergues (thèse)	2000	7 stations	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Stockage</li> <li>➤ Chaulage</li> <li>➤ Compostage</li> </ul>	<i>Enterovirus</i> infectieux Bactériophages Œuf d'helminthes Salmonelles <i>E. coli</i> Entérocoques
Monpoeho (thèse)	2001	5 stations	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Chaulage</li> <li>➤ Compostage</li> <li>➤ Digestion anaérobie</li> <li>➤ Conditionnement thermique</li> </ul>	<i>Entérovirus</i> et VHA
Verozy-Rozand	2001	169 échantillons de boues de STEP et 14 de lagunes, origine non précisée	Non précisé	<i>E. coli</i> vérotoxique
AGHTM	2002	60 stations (1 campagne hiver)	11 filières étudiées destinées à la valorisation agricole	Salmonelles, <i>E. coli</i>
Garrec (thèse)	2003	3 stations 1 an de suivi	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Déshydratation</li> <li>➤ Chaulage</li> <li>➤ Stockage</li> </ul>	<i>Listeria</i> sp. <i>Listeria monocytogenes</i>
Paillard (thèse)	2003	6 stations 1 an de suivi	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Déshydratation+Stabilisation aérobie</li> <li>➤ Déshydratation</li> <li>➤ Déshydratation+ stabilisation chaux</li> <li>➤ Déshydratation + chaulage</li> <li>➤ Compostage</li> <li>➤ Epaissement</li> </ul>	<i>Listeria</i> sp.
Vansteelant (thèse)	2004	22 stations	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Déshydratation mécanique</li> <li>➤ Chaulage</li> <li>➤ Chaulage et déshydratation</li> <li>➤ Compostage</li> </ul>	<i>Salmonella</i> sp. Œufs d'Helminthes

**Tableau 8 : références des travaux français sur l'impact biologique des traitements des boues urbaines.**

Une étude (Spillman et al. 1987 d'après Madeline 2003a) a montré que les coxsackievirus B5 sont rapidement inactivés par des **digestions thermophiles aérobies** à 61°C (1,67 log/j).

La **digestion anaérobie mésophile** a été étudiée par Monpoého (2001) et les résultats indiquent un faible pouvoir hygiénisant de ce type de traitement. Les charges virales dans les boues digérées sont faibles de mars à novembre et augmente de manière importante de décembre à février.

Pour le **conditionnement thermique**, Monpoého (2001) n'a mis en évidence aucun génome ni virus infectieux durant les 7 premiers mois de suivi (mars à novembre). Cependant, les virus sont détectés par culture cellulaire et par PCR de décembre à janvier malgré les conditions de température et de pression qui régissent dans le cuiseur.

Monpoého (2001) a observé l'efficacité du procédé de **chaulage** sur les Entérovirus. La présence du virus de l'hépatite A est très inconstante, il a été détectable pendant la période de janvier à août.

En ce qui concerne le **compostage**, tous les procédés étudiés ont abouti à la production de composts exempts d'Entérovirus (Cardières 2000 ; Monpoého 2001).

La température semble un facteur déterminant de l'inactivation virale mais d'autres facteurs chimiques (ammoniacque, détergents) ou biologiques (enzymes bactériens protéolytiques) sont fortement influents.

#### 1.2.1.1.2. Salmonelles

Dans les travaux de Cadiergues (2000), les salmonelles ont été recherchées de manière qualitative (présence/absence) car il n'existait pas encore de méthode analytique standardisée et n'ont donc pu être exploitées quantitativement. Toutefois, les résultats montrent une efficacité du compostage pour l'élimination des salmonelles à l'exception de cas de recroissance observés pour 2 procédés étudiés (andains et aération forcée 70°C / 3 jours puis 50°C / 20 jours). Après l'étape supplémentaire de maturation, aucune salmonelle n'est mise en évidence dans le compost.

Vansteellant (2004) a synthétisé des résultats d'analyses effectuées entre 1996 et 2000 au niveau de 22 stations d'épuration des départements de Savoie et Haute-Savoie. La capacité moyenne des STEP est de 24 000 EH (30% des échantillons proviennent de STEP de capacité inférieure à 10 000 EH, 38% de STEP de capacité comprise entre 10 et 30 000 EH, 23% de STEP de capacité comprise entre 30 et 40 000 EH et 8% de STEP de capacité supérieure à 100 000 EH). Le traitement des eaux usées est principalement biologique (aération prolongée à faible ou moyenne charge, lit bactérien). Les traitements des boues appliqués sont la **déshydratation mécanique**, le **chaulage** (10 à 20% de CaO / MS), **chaulage avant déshydratation** (25 à 30% CaO / MS) et **compostage**. Au total, 295 analyses bactériologiques ont été analysées. La présence de *Salmonella sp.* dans les boues est détectée dans seulement 4,7% des échantillons. Aucune relation avec le type de traitement ou le type d'établissement raccordé n'a pu être observé.

Au niveau du traitement par **compostage**, les quelques résultats quantifiés montrent l'absence de salmonelles. La survie des salmonelles a été étudiée dans différents types de composts (Droffner et Brinton 1995). Les salmonelles sont détectées au moins pendant les 11 premiers jours de compostage de boues d'épuration (> 60°C), puis deviennent indétectables à partir de la chute de température du processus de compostage. L'ensemble des résultats de l'étude suggère aux auteurs que le mécanisme de réduction des microorganismes pendant le compostage est complexe et ne résulte pas seulement du couple température/durée qui caractérise le compostage.

Dans certaines conditions, il a été observé une recroissance des salmonelles dans des boues compostées. Une étude expérimentale (Sidhu 2001) suggère que la

microflore indigène des composts a un rôle antagoniste sur la recroissance des salmonelles.

Aucune salmonelle n'a été détectée dans les traitements par **chaulage** (chaux vive et chaux éteinte) (NANCIE 2000, Cadiergues 2000). Sur 13 stations pratiquant un traitement de chaulage et investiguées par l'étude AGHTM (2002), des salmonelles ont été détectées uniquement sur 6 d'entre elles en concentrations variées (max < 1000 NPP/g MS).

Gantzer (2001) a étudié différents types de traitement des boues : 4 traitements biologiques (**stabilisation mésophile, digestion anaérobie mésophile, digestion aérobie thermophile et compostage**, 3 traitements chimiques (chaux éteinte à 26 et 62% et chaux vive à 25%), **traitement thermique** (108°C). A la fin de 4 traitements (chaux vive à 25%, chaux éteinte 62%, compostage et traitement thermique), les salmonelles sont totalement éliminées. Pour les autres traitements, les salmonelles sont encore détectées à la fin du procédé.

#### 1.2.1.1.3. *Listeria* spp.

Pour les boues liquides et pâteuses, 3 stations ont été investiguées (Garrec 2003) et les mesures font état d'une concentration d'environ 200 NPP /g MS pour les boues liquides et de 35 NPP /g MS pour les boues pâteuses.

Paillard (2003) a étudié l'impact du **chaulage** et du **compostage** sur les *Listeria* spp. et n'a retrouvé aucune bactérie dans les échantillons mesurés alors qu'elles étaient présentes avant traitement à l'exception d'un lot dont la température n'avait atteint qu'une température de 45°C.

La variation saisonnière des concentrations n'a pas pu être clairement déterminée (Paillard 2003 et Garrec 2003).

#### 1.2.1.1.4. Œufs d'helminthes

Ces agents biologiques ont été étudiés par Gaspard (1995), NANCIE (2000), Cadiergues (2000) et Vansteelant (2004). Les techniques de récupération des œufs et d'analyse de la viabilité employées sont toutes différentes, les résultats ne sont donc pas directement comparables. Gaspard (1995) précise le seuil de détection de 25 œufs / 100 g MS et Vansteelant (2004) de 0,1 œuf / g MS.

Gaspard (Gaspard, Wiart et al. 1997) a analysé 99 échantillons de boues de 3 types (boue urbaine, sédiments de lagune et compost) provenant d'une enquête nationale. Les boues urbaines sont essentiellement des **boues activées**. Les résultats des analyses de boues urbaines montrent que 47% des échantillons avaient des concentrations inférieures à 60 œufs / 100 g MS et 38% avaient des concentrations comprises entre 60 et 240 œufs / 100 g MS. Seuls 15% des résultats d'analyses étaient supérieurs à 240 œufs / 100 g MS avec un maximum de 898 œufs et une moyenne de 464 œufs / 100 g MS. La concentration moyenne pour les stations de taille inférieure à 5000 EH (240) était supérieure à celle des autres échantillons (concentration moyenne comprise entre 79 et 116 œufs / 100 g MS). La concentration moyenne pour l'ensemble des échantillons est de 130 œufs / 100 g MS.

Aucun œuf d'helminthe viable n'a été détecté (NANCIE 2000) après un traitement par **aération prolongée** (3 stations), par **digestion aérobie thermophile** (une station) ou **par conditionnement physico-chimique** (soit chlorure ferrique+ polymère cationique sur boues mixtes soit chlorure ferrique+chaux éteinte sur

boue biologique, 2 stations). Les charges mesurées varient de 2 à 16 œufs viables pour 10 g MS pour un traitement par digestion anaérobie et par stabilisation psychrophile ce qui est en accord avec les résultats de la bibliographie de NANCIE (2000) (10 œufs viables /10 g).

Des œufs d'helminthes sont détectés dans 44,3% des échantillons (n=260) analysés par Vansteelant (2004) avec des concentrations variant du seuil de détection à 12 œufs / g MS. Les parasites les plus fréquemment retrouvés sont *Ascaris* (38% des échantillons) et *Taenia* (23% des échantillons). La détection des autres parasites (trichuris, oxyures, petites et grandes douves, strongles gastro-intestinaux) concerne moins de 10% des échantillons.

Le **lagunage** a été étudié sur 2 stations dans l'étude NANCIE (2000), aucun œuf viable n'a été détecté. Les sédiments (4-6 ans) de 3 lagunes ont été analysés par Gaspard (1995) en différents points (entrée, milieu, sortie). Une concentration maximum de 569 œufs d'helminthes / 100 g MS a été mesurée en milieu de lagune A pour une moyenne de 200 œufs d'helminthes / 100 g MS mesurée en entrée des lagunes A et B. La viabilité estimée par Gaspard (1995) sur un échantillon était de 26%.

Pour les boues pâteuses ayant subi une **déshydratation suite à une stabilisation biologique** (digestion anaérobie, stabilisation psychrophile, digestion aérobie thermophile) la charge maximale mesurée (Gaspard 1995; Cardiergues 2000) est comprise entre 12 et 25 œufs viables / 10 g MS. Vansteelant (2004) a trouvé une concentration maximale comprise entre 7 et 9 œufs / g MS pour 19% des 79 échantillons de boues ayant subi une déshydratation mécanique.

Pour le **chaulage**, on constate, à partir des résultats de l'étude NANCIE (2000), la plus grande efficacité de la chaux éteinte (5 œufs viables / 10 g MS) sur la chaux vive (30 œufs viables / 10 g MS) mais ces résultats sont vraisemblablement liés au pH atteint et au temps de contact. Les autres résultats disponibles font état de concentrations comprises entre le seuil de détection et 5 œufs viables / 10g MS. Gaspard (1995) a détecté des œufs dans des boues chaulées jusqu'à 30%. Il ne semble donc pas que le chaulage supprime totalement les contaminations en œufs d'helminthes. La viabilité des œufs a été estimée à partir de 6 échantillons à 66% (Gaspard 1995). Pour les boues subissant un chaulage fort, Vansteelant (2004) a trouvé que 98% des 43 échantillons avaient une concentration comprise entre 0 et 4 œufs / g MS.

Dans les **composts**, des œufs d'helminthes sont analysés (Gaspard 1995) dans tous les échantillons analysés (n=6) avec une concentration moyenne de 40,8 œufs +/- 19,2 / 100 g MS. Les concentrations dépendent étroitement de 2 facteurs : la teneur initiale des boues en œufs d'helminthes et la qualité du traitement de compostage avec notamment l'importance de l'homogénéisation sur l'impact de la température. La viabilité déterminée sur 6 échantillons était de 25%.

Aucun œuf viable n'a été détecté dans les composts des filières analysées dans l'étude NANCIE (2000) ni par Cardiergues (2000). Sur 24 échantillons de boues compostées, Vansteelant (2004) a trouvé que 96% des échantillons avaient une concentration comprise entre 0 et 2 œufs / g MS.

Les traitements étudiés par Gantzer (2001) n'ont pas tellement d'influence sur la concentration en œufs de nématodes des boues. La concentration moyenne en

œufs viables est comprise entre <1 et 30 œufs / 10 g MS. Seuls 4 traitements permettent d'obtenir des boues hygiénisées selon les recommandations françaises : **digestion aérobie thermophile, traitement thermique, compostage et stockage de boues traitées par chaux éteinte** (62%). Aucune différence saisonnière n'a été observée pour la stabilisation mésophile, la digestion aérobie thermophile, le compostage et le traitement thermique. Des différences saisonnières ont été notées pour les boues traitées par digestion anaérobie mésophile qui pouvaient être considérées comme hygiénisées en hiver, pour les traitements à la chaux éteinte pour lesquels seules les saisons de printemps et d'été permettaient d'obtenir des boues hygiénisées, pour les boues traitées à la chaux vive pour lesquelles les concentrations étaient très grandes en automne et en hiver et indétectables au printemps ou en été. Ces importantes différences ne résultent certainement pas que des influences climatiques mais peut être aussi des conditions de chaulage.

La viabilité a été étudiée par Gaspard (1995) sur un échantillon qui donnait 66 % d'œufs viables. Une autre étude française (Barbier, 1989 cité par Gaspard 1995) avait déterminé, pour le même traitement, une viabilité de 25%. Dans les **boues liquides**, les œufs de nématodes viables ne sont pratiquement pas inactivés quelque soit le pH et le délai (Cadiergues 2000). Une viabilité de 80-93% des œufs d'*Ascaris suum* issus de porcs est observée dans des boues de digestion aérobie 10 jours après l'inoculation tandis que seulement 10% des œufs sont viables dans des boues de digestion anaérobie pour les mêmes température et durée de digestion (Kato, Fogarty et al. 2003). Il n'existe plus de source de contamination de ce parasite via le porc actuellement en France en raison des mesures d'hygiène en vigueur et de l'élevage industriel du porc.

L'étude du développement des œufs dans les boues (Gaspard 1995) indique que les œufs de nématodes se développent uniquement dans des conditions aérobies.

#### 1.2.1.1.5. Kystes de *Giardia* viables

Les résultats disponibles proviennent de l'étude NANCIE (2000) et des travaux de Thiriart (1998). La méthode de quantification des *Giardia* dans les boues est identique.

La viabilité des kystes a été étudiée par Thiriart (1998) sur 69 échantillons de boues (23 types de boues, 3 campagnes de prélèvement) à raison de 3 triplicats par échantillons. La viabilité moyenne est de 4,2% pour les boues de type biologique liquide et de 1,3% pour les boues biologiques ayant subi un traitement mécanique de déshydratation ou un stockage prolongé.

Aucun kyste viable n'est détecté dans les boues de lagune.

Pour les boues liquides ayant subi une stabilisation biologique, Thiriart a déterminé des concentrations au plus égale à 6 kystes viables / 10 g MS avec une viabilité au maximum de 2% pour l'ensemble des kystes détectés.

Dans l'étude NANCIE, 2 stations ont été étudiées pour 3 traitements : **conditionnement physico-chimique, stabilisation psychrophile et digestion anaérobie**. Dans chacun des 3 cas, pour une station sur 2, aucun kyste viable n'était détecté tandis que pour l'autre station, une concentration d'environ 4 log / 10 g MS était mesurée.

Aucune réduction statistiquement significative de la charge en kystes de *Giardia* de boues de **digestion anaérobie déshydratées** n'a été observée (Chauret,

Springthorpe et al. 1999). Une concentration de 40 kystes / g MS a été mesurée sans étude de la viabilité.

Sur les échantillons traités par **chaulage**, **compostage** ou **séchage thermique**, aucune viabilité n'est mesurée. Thiriat (1998) rajoute qu'aucun kyste viable n'a été identifié dans les boues digérées anaérobies mésophiles, les boues digérées aérobies thermophiles et les boues en sortie de lagunage.

Thiriat (1998) n'a pas observé de variations saisonnières (hiver, printemps) de contamination sur les boues étudiées.

#### 1.2.1.1.6. Oocystes de *Cryptosporidium* sp.

L'effet du traitement des boues par **digestion anaérobie mésophile** (35 °C) sur les ***Cryptosporidium*** a été étudié en laboratoire (Whitmore et Robertson 1995). Les résultats de l'étude montrent que les *Cryptosporidium* décanent mal dans les boues primaires. Leur viabilité diminue d'une valeur initiale de 81% à 17% en 3 jours pour se stabiliser à environ 10% jusqu'à la fin de la période d'observation (18 jours de digestion). L'auteur note que la **digestion aérobie thermophile** (55°C) et la **pasteurisation** (55°C) sont des traitements efficaces pour inactiver les oocystes de *Cryptosporidium*.

Chauret (1999) a étudié le même procédé de digestion anaérobie mésophile en conditions réelles et a réalisé des analyses sur les boues déshydratées mais sans étudier la viabilité des oocystes. Une réduction très faible (0,3 log) a été observée entre la boue non traitée et la boue traitée (moyenne arithmétique n=10 : 8 oocystes / g MS).

La viabilité à 10 jours (test de perméabilité par coloration) a également été étudiée sur des boues de digestion aérobie et anaérobie lors de l'inoculation de protozoaires issus de veaux pour 3 températures de digestion, 37°C, 47°C et 55°C (Kato, Fogarty et al. 2003) : 87 à 97% des protozoaires maintenus à 37°C sont inactivés au bout de 6 jours suivant l'inoculation ; ils sont tous inactivés au bout de 10 jours. Aucune différence statistiquement significative n'est observée entre les boues de digestion aérobie ou anaérobie.

#### 1.2.1.1.7. Autres données

Rusin (2003) a étudié la contamination de boues traitées en ***Staphylococcus aureus***. Dans les 23 échantillons testés provenant de traitements variés (digestion anaérobie mésophile et stabilisation aérobie mésophile avec ou sans chaulage, séchage, compostage, digestion thermophile), aucune bactérie n'a été détectée (< 30 NPP/100 g).

Les **campylobacters** sont normalement totalelement éliminées par digestion des boues mais quelques échantillons positifs ont été cependant détectés en hiver (Jones 2001).

Dans l'étude sur la présence **d'*E. coli* vérotoxiques** (VTEC) dans les boues (Vernozy-Rozand, Montet et al. 2002), les boues de réservoir dans lesquelles ont été retrouvées des VTEC (1 souche O55 et une souche non identifiée) avaient suivi un épaissement en silo ou en lit et ont été épandues. Parmi les 44 échantillons de lagune, 43% contiennent des *E. coli* vérotoxiques mais aucune souche n'a été isolée. L'auteur conclut que les boues ayant subi un traitement sont significativement moins contaminées que les effluents d'élevage et que leur

épandage est par conséquent peu associé à l'introduction de VTEC dans l'environnement.

Durant le procédé de compostage, une large variété d'agents biologiques se développent (actinomycètes thermophiles, champignons comme *A. fumigatus*).

Les **actinomycètes thermophiles** (bactéries Gram positif) sont présents dans les boues d'épuration. Une étude citée par le CAREPS (Deloraine 2002) fait état d'une concentration de  $10^3$  UFC/g MS dans le produit de départ puis de  $3.10^6$  UFC/g MS dans le produit final = compost (J 100). En début de compostage, les populations sont majoritairement représentées par le genre *Thermomonospora* (75% des souches) et *Thermoactinomyces* (10% des souches). Dans les phases suivantes du compostage et du stockage, les populations sont majoritairement *Saccharomonospora viridis* et *Faenia rectivirgula*.

Dans les boues de STEP, les **champignons thermophiles** sont présents en concentrations de l'ordre de  $10^3$  à  $10^5$  UFC/g MS d'après 2 études citées par Deloraine (2002) ; les concentrations diffèrent peu entre le produit de départ et le compost final. Les concentrations de départ dans les boues en *Aspergillus* vont de  $10^2$  à  $10^3$  UFC/g MS mais elles peuvent être plus importantes ( $10^7$  UFC/g MS) lorsque des copeaux de bois sont rajoutés (Deloraine 2002). A la fin de la maturation du compost (2-4 mois), on mesure une concentration de  $2,1.10^4$  UFC/g MS, et *A. fumigatus* représente 30% des populations thermophiles. Les copeaux de bois, utilisés comme agents structurants, sont la principale source d' *A. fumigatus* dans le compost (Deloraine 2002).

Les **endotoxines** produites par les bactéries Gram négatif ont été incrimées pour expliquer les symptômes rapportés par des travailleurs d'une usine de compostage utilisant des boues de STEP. Par ailleurs, elles ont déjà été mesurées dans les bioaérosols de l'air ambiant des usines de compostage (Deloraine 2002). La recherche d'**endotoxines** dans du compost de boue, n'a jamais été effectuée à notre connaissance.

#### 1.2.1.2. BOUES INDUSTRIELLES

Aucune donnée sur la présence et la quantification de pathogènes dans les boues traitées d'abattoirs et de laiteries n'a pu être trouvée dans la littérature à l'exception d'un article récent sur l'abattoir de porcs de Lamballe (22) exploité par la Cooperl (TSM n°3, 2005 p 4-7). Ce dernier est l'un des plus grands d'Europe avec 500 porcs abattus et découpés par heure. Les boues issues du traitement physico-chimique des eaux de l'abattoir subissent une déshydratation et un séchage thermique.

#### 1.2.2. SYNTHÈSE DES DONNÉES DISPONIBLES SUR LES TRAITEMENTS ASSURANT UNE INACTIVATION TOTALE DES AGENTS PATHOGÈNES

A l'exception de l'incinération, du séchage thermique, l'inactivation des agents pathogènes par les différents types de traitement appliqués aux boues (pré-traitement avant digestion, stabilisation, déshydratation, stockage, post-traitement) n'est pas systématique et dépend d'une part de la contamination initiale des boues et d'autre part de la mise en œuvre du procédé, c'est à dire de l'efficacité du couple température (et/ou pH et/ou teneur en O<sub>2</sub>) / durée appliqué.

La Commission européenne (EC 2001) a proposé dans un nouveau document officiel des traitements avancés garantissant la réduction en pathogènes à des niveaux « non significatifs » c'est à dire entraînant un « risque minimal » (non défini) pour l'homme, l'animal et les écosystèmes (tableau 9).

Procédé	Paramètres
Compostage en andains	55°C, 4 heures entre chaque 3 retournements, suivi d'une maturation
Compostage en andain et en tunnel	40 °C, 5 jours dont 4 heures à 55 °c suivi d'une maturation
Séchage thermique	80 °C, 10 min et réduction de l'humidité en dessous de 10 %
Digestion thermophile (aérobie et anaérobie)	55°C, 4 heures avec une temps de séjour suffisant pour stabiliser la boue
Traitement thermique suivi d'une digestion	70 °C, 30 min suivi d'une digestion anaérobie mésophile à 35 °C avec un temps de séjour de 12 jours
Chaulage	pH 12, 55 °C pendant 2 heures après mélange

*Tableau 9 : traitements avancés pour la réduction du risque pathogène (EC 2001).*

Des exigences d'assainissement sont précisées dans l'annexe II du document de travail « Traitement biologique des biodéchets 2<sup>ème</sup> version » de février 2001 de la Commission européenne pour le compostage aérobie.

	Température °C	Durée du traitement	Retournements
Compostage en andains	55	2 semaines	5
Compostage en andains	65	1 semaine	2
Compostage en système fermé	60	1 semaine	Pas de consigne

*Tableau 10 : exigences d'assainissement (annexe II du document de travail européen « Traitement biologique des biodéchets 2<sup>ème</sup> version » de février 2001).*

La fermentation anaérobie doit être réalisée de telle manière qu'une température minimale de 55°C soit maintenue pendant 24 heures sans interruption et que le temps de rétention hydraulique dans le réacteur soit d'au moins 20 jours. En cas de température de fonctionnement plus basse ou de période d'exposition plus courte :

- Les biodéchets sont préchauffés à 70°C pendant une heure,
- Le digestat est post-traité à 70°C pendant une heure ou
- Le digestat est composté.

Les tableaux suivants (

tableau 11 à tableau 14) rassemblent les procédés conduisant à une hygiénisation des boues (Entérovirus, salmonelles, œufs d'helminthes et *Giardia spp.*) d'après les documents étudiés. Dans ces tableaux sont retenus les procédés avec des données entrée/sortie en germes permettant de vérifier un abattement par le procédé et dont le contenu en sortie respectait les seuils réglementaires. Pour les

Giardia, seuls les procédés conduisant à une élimination des Giardia viables ont été retenus.

Agent biologique	Entérovirus			
Procédé étudié	Température °C/ pH	Charge initiale	Temps de séjour	Etude
Compostage	55	10 <sup>8</sup> PFU/g MS	4h	UK WIR 2002
	40	10 <sup>8</sup> PFU/g MS	5 j	<b>Poliovirus</b>
	non précisé	avant mélange avec écorces : <1,7-112 NPPUC/g MS (médiane 10,4) après mélange : <1,7-92,6 NPPUC/g MS (médiane 6,8)	non précisé	Monpohéo (2001) boues déshydratées (18-20 %), fermentation andain 3-4 semaines, criblage (45 % mâturation 3 mois (60-80 %)
Chaulage	addition de chaux à des cakes (22-35 %ds) jusqu'à pH 12	10 <sup>8</sup> PFU/g MS	2 heures	UK WIR 2002 <b>Poliovirus</b>
	mélange 50/50, pH 12,5-13 après refroidissement	3,4-167 NPPUC/g MS (moyenne 48)	non précisé	Monpohéo 2001, boues déshydratées (18-20 %)
Pasteurisation suivie par digestion anaérobie mésophile	70	10 <sup>8</sup> pfu/g MS	30 mn	UK WIR 2002 <b>Poliovirus</b>

*Tableau 11 : caractéristiques des procédés assurant une élimination des Entérovirus.*

Dans l'étude AGHTM 2002, les boues en sortie de 26 des stations étudiées sont considérées comme hygiénisées en respectant seulement le seuil en salmonelles pour la réglementation française. Les filières de traitement de ces stations comportent des procédés pouvant être hygiénisants mais aucun bilan n'a été réalisé lors de cette étude.

Agent biologique	Salmonelle					
Procédé étudié	Température ou pH	Temps de séjour (jours)	charge initiale	Station	Capacité	ETUDE
Compostage	50-55°C	28 j	2-4 log /g MS	SLE F	3000 T/an	NANCIE 2000
	> 55°C	21 à 28 j	2,5 log/g MS	Station E	80 000 eqH	Cadiergues 2000
	60-70°C	21 j				
	50-55 °C	28 j				
	70°C puis 50°C	3 j puis 20 j	10/10g MS			
Chaulage	pH=11,5-12,5, chaux vive 25%		4-5 log /g MS	SLE J	40 000 eqH	NANCIE 2000
	pH=11,5-12,5, chaux 26-35%		2-5 log /g MS	SLE H	40 000 eqH	
	pH=12, chaux 35-40%		0,5-4,5 log /g MS	Station O	105 000 eqH	
	pH>10, chaux 15%					Cadiergues 2000
	pH>10, chaux 30%					
	pH>10, chaux 45%					
Séchage indirect	115°C	6h	4 log /g MS	SLE I	70 000 eqH	NANCIE 2000
Pasteurisation suivie par digestion anaérobie mésophile	70°C	30 mn	10 <sup>8</sup> cfu/g MS	70°C	30 mn	UK WIR 2002
	55°C	240 mn		55°C	240 mn	

*Tableau 12 : caractéristiques des procédés assurant une élimination des salmonelles d'après les études citées.*

Agent biologique	œufs d'helminthes					
Procédé étudié	Température ou pH	Temps de séjour (jours ou h)	charge initiale	Station	Capacité	ETUDE
Stabilisation aérobie thermophile	25-48°C	30 j	1-9 œuf viab/10 gMS	SLE C	17 000 eqH	NANCIE 2000
Lagunage	Ambiante	10-15 ans	1-20 œuf viab/10 gMS	SLE D	400 eqH	NANCIE 2000
	Ambiante	11-15 ans	6-10 œuf viab/10 gMS	SLE E		
Compostage	50-55°C	28 j	0-5 œuf viab/10 gMS	SLE F	3000 T/an	NANCIE 2000
Séchage indirect	115°C	6h	10-20 œuf viab/10 gMS	SLE I	70 000 eqH	NANCIE 2000
Chaulage	pH initial 12,5-13 MS >20 %, puis stabilité pH 12-12,4	2-3 mois	133 œufs /g MS			Gaspard 1995

*Tableau 13 : caractéristiques des procédés assurant une élimination des œufs d'helminthes d'après les études citées.*

Agent biologique Procédé étudié	Kystes de <i>Giardia</i>					
	Température ou pH	Temps de séjour (jours ou h)	charge initiale (log kystes viables)	Station	Capacité	ETUDE
Stabilisation aérobie thermophile	25-48°C	30 j	4-4,5 log/10 gMS	SLE C	17 000 eqH	NANCIE 2000
Digestion anaérobie	37°C	25 j	4-4,2 log/10 gMS	SLE A	25 000 eqH	NANCIE 2000
Compostage	> 50°C	21-28 j	3 log/10 gMS	Station E	80 000 eqH	NANCIE 2000
Chaulage	pH=11,5-12,5, chaux vive 25%		4,8 log /g MS	SLE J	40 000 eqH	NANCIE 2000
	pH=12, chaux 35-40%		3,9 log /g MS	Station O	105 000 eqH	

Tableau 14 : caractéristiques des procédés assurant une élimination des *Giardia* spp. d'après les études citées.

### 1.2.3. CONCLUSION

Certains traitements des boues permettent d'éliminer les agents pathogènes suivants :

- Les virus entériques sont incapables de se multiplier dans l'environnement et ne présentent pas de résistance particulière vis à vis des traitements. L'élimination des Entérovirus a été observée par les procédés de chaulage, et de compostage. Si des effets saisonniers sont observables sur la concentration des virus dans les eaux usées, il n'en est pas de même des boues pour lesquelles aucune tendance claire ne se dégage d'après les données disponibles ;
- Les salmonelles ne sont pas très résistantes aux différents traitements, mais elles sont susceptibles de se développer de manière importante dans les boues traitées et dans certains cas particuliers (défaut dans la conduite du procédé de fermentation et/ou durée de stockage du compost insuffisant) dans les boues compostées ; en général, le compostage, le traitement thermique, et le chaulage ont une bonne efficacité (pas de détection ultérieure des bactéries). De la même façon que pour les virus, l'impact des saisons n'agit pas clairement sur la concentration en salmonelles dans les boues ;
- Les œufs d'helminthes sont incapables de se multiplier dans l'environnement mais ils sont assez résistants aux traitements. L'efficacité du chaulage, de la stabilisation aérobie thermophile, du lagunage, du compostage et du séchage a été observée. Aucune différence saisonnière n'a été observée dans les cas étudiés ;
- Les *Listeria spp.* peuvent être éliminées par chaulage et par compostage ;
- Pour les kystes de *Giardia spp.*, les traitements les plus efficaces sont la stabilisation aérobie thermophile, la digestion anaérobie, le chaulage et le compostage ; aucune variation saisonnière de la contamination des boues traitées n'a été observée.

Pour certains agents pathogènes (*Cryptosporidium sp.*, staphylocoque, *Pseudomonas spp.*, *Campylobacter spp.*, agents biologiques des composts de boue), les données sur les boues traitées sont peu nombreuses.

Quant à la contamination des boues traitées d'abattoirs, elle ne semble jamais avoir été étudiée.

### 1.3. LES AGENTS PATHOGENES DANS LES BOUES STOCKEES

La plupart du temps les boues sont stockées durant une longue période (plusieurs mois) pour s'adapter aux périodes de fertilisation. Ce long stockage peut contribuer à la réduction des pathogènes de la boue. Mais cette réduction est surtout effective dans le cas de boues stockées sous forme liquide. On ne peut

toutefois considérer un stockage liquide comme un traitement fiable car les boues liquides sont rarement gérées en lots ; en effet, les stockages sous forme liquides sont souvent dans des ouvrages uniques. Ils sont donc alimentés de boues fraîches continuellement, ce qui contamine les boues anciennes déjà partiellement décontaminées. A noter que ces stockages sous forme liquide ne sont réalistes que pour des stations d'épuration de petite capacité. Les stations dont les plans d'épandage sont soumis à autorisation n'ont pas ce type de stockage liquide.

### 1.3.1. FACTEURS INTERVENANT SUR LA SURVIE DES AGENTS PATHOGENES LORS DU STOCKAGE

L'influence du stockage sur l'inactivation des agents pathogènes est liée à la fois à la nature des boues stockées et aux conditions environnementales (température et durée du stockage).

#### 1.3.1.1. FACTEURS LIES A LA BOUE

Ils concernent :

- La siccité de la boue : la dessiccation est très défavorable à la survie des micro-organismes,
- Le pH : les recroissances des agents biologiques sont observées pour des pH compris entre 5,5 et 10,
- La présence de nutriments favorisant la croissance,
- La composition biologique : les agents pathogènes sont en compétition avec les organismes saprophytes des boues (phénomènes de prédation ou action directe de substances inactivantes secrétées par les saprophytes),
- La composition chimique : il est vraisemblable que les différents composés présents dans les boues influencent la survie des pathogènes mais, en l'état des connaissances actuelles, nous n'avons pas trouvé de données de la littérature pour préciser et généraliser cet effet,
- le traitement antérieur subi par la boue qui détermine la viabilité de certains agents pathogènes comme les kystes de *Giardia*.

#### 1.3.1.2. FACTEURS LIES AUX CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES

Les conditions de stockage (aérobie ou anaérobie), les conditions climatiques (température, ensoleillement, humidité) influent sur la durée de survie des agents pathogènes dans l'environnement.

Globalement, le stockage semble entraîner une inactivation assez rapide des micro-organismes pendant les premières semaines avant une stabilisation de l'inactivation.

La **température** atteinte par les boues au cours du stockage détermine essentiellement le temps de survie des micro-organismes. Par exemple, Schwartzbrod (1997 cité par Cadiergues 2000) a observé une durée de survie d'un an pour des Entérovirus dans des boues déshydratées stockées à température extérieure et une durée de 2 ans pour des salmonelles de boues de lagunage. Ces dernières sont capables de se multiplier si les conditions sont favorables à leur croissance.

Les œufs d'helminthes présentent une résistance très supérieure à celle des bactéries pathogènes et des virus. Globalement, les œufs d'helminthes viables

peuvent classiquement survivre dans des boues stockées pendant plus de 4 mois. Au-delà de 6 mois, le stockage des boues entraîne une réduction du nombre d'œufs capables de se développer normalement.

### 1.3.2. RESULTATS D'ETUDES RECENTES

L'ensemble des résultats des études présentées ci-dessous est synthétisé dans le tableau 15.

Le stockage de boues de digestion anaérobie déshydratées mécaniquement placées sur un sol sableux dans un tas d'un mètre de haut a été étudié lors de 2 essais, un à l'automne (15 mois) et l'autre au printemps (6 mois) (Gibbs 1997).

En milieu naturel et après végétalisation spontanée, le stockage d'une boue solide (digérée et déshydratée) pendant 18 mois entraîne la totale disparition des pathogènes (*Enterovirus*, œuf de nématodes ou salmonelle) quelle que soit la localisation de l'échantillon dans la couche de boues (Cadiergues 2000).

Six conditions de stockage en cuves pendant 8,5 mois ont été étudiées dans l'étude NANCIE (2000) concernant les traitements d'aération prolongée (pour le stockage en lagune), la digestion anaérobie, le séchage, le chaulage (chaux éteinte et chaux vive), le compostage. Les analyses ont concerné les salmonelles, les helminthes, les entérovirus et les *Giardia*. Les auteurs concluent que les boues issues des différents traitements étudiés et stockées pendant 9 mois sont hygiénisées à l'exception des boues provenant du traitement par aération prolongée.

Des échantillons de boues activées (n=84) ayant été stockés entre 1 et 230 jours avant épandage ont été analysés pour leur contamination parasitaire (Schwartzbrod et Banas 2003). Les échantillons positifs représentaient 86,8% pour les œufs d'helminthes dont 76,1% pour les œufs de nématodes viables caractérisés par le genre *Toxocara*.

Le stockage des *Listeria monocytogenes* a été étudié sur des boues activées provenant de stations proches d'Angers : Savennières (900 EH) et Ecoflant (2000 EH) (Garrec, 2003). Le comportement de 2 souches virulentes de *L. monocytogenes* dans des boues liquides issues d'un silo a été étudié suite à une inoculation artificielle des bactéries et une incubation à 20°C pendant 6 mois. En présence de la microflore compétitive, la population de *L. monocytogenes* a décliné très rapidement et n'a plus été détectée après 14 jours.

Thiriart (1998) a observé une évolution des concentrations des kystes de *Giardia* suivant le type de boues (mixtes déshydratées – 1/3 boues primaires épaissies + 2/3 boues digestion anaérobie mésophile sur filtre à bande et chaulées : mélange boues biologiques en excès + boues digestion anaérobie mésophile / chaux éteinte/ filtre à presse pendant 6 mois) pendant un stockage artificiel statique en extérieur. Pour l'auteur, le traitement des boues, subi avant le stockage, aurait plus d'importance que la durée du stockage. Le stockage constitue un bon traitement des boues car il a un impact direct sur la viabilité des kystes.

Gantzer (2001) a étudié l'impact d'un traitement par stockage (60-120-180-240 jours) sur les salmonelles et les œufs de nématodes de boues : stockage de boues déshydratées ayant subi une digestion anaérobie et stockage de boues traitées par de la chaux éteinte à 62%.

Traitement des boues stockées	Salmonelles	Entérovirus	Helminthes	Giardia	Listeria
Boues aération prolongée	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Rapidement absentes NANCIE (2000)</li> <li>◆ plus isolées après 7 jours de stockage (Cadiergues 2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ augmentent au cours du temps NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Aucun parasite viable détecté au terme du stockage NANCIE (2000)</li> <li>◆ concentration en œufs de nématodes viables était comprise entre &lt;1 et 9,6 œufs /4 g MS (Schwartzbrod et Banas 2003)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ augmentent au cours du temps NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ faible réduction de la contamination (concentrations mesurées entre 1 et 240 NPP/g MS quelle que soit la période) (Garrec 2003)</li> </ul>
Boues digérées	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ La concentration en salmonelles reste stable après le 1<sup>er</sup> mois et &lt; 8 NPP/10 g MS par la suite NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ non détectés au terme du stockage NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ non détectés au terme du stockage NANCIE (2000)</li> </ul>		
Boues digérées déshydratées	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ plus isolées après 7 jours de stockage Cadiergues (2000)</li> <li>◆ disparaissent complètement après 16 semaines de stockage. La concentration réaugmente la 52<sup>ème</sup> semaine de 2,2 NPP/g après la survenue de pluie suivant une période de sécheresse (Gibbs 1997)</li> <li>◆ détection après 240 j de stockage Gantzer (2001)</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ aucune influence sur la densité en œufs de nématodes viables n'est constatée pendant la durée du stockage (2 mois) Cadiergues (2000)</li> <li>◆ la concentration en œufs de nématodes n'est pas sensiblement affectée par le stockage (Gantzer 2001)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ augmentation du nombre de kystes sur la période d'étude (Thiriart 1998)</li> </ul>	
Boues séchées	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ non détectés NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ non détectés NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ non détectés NANCIE (2000)</li> </ul>		
Boues chaulées (chaux éteinte)	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ non détectés NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ non détectés NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ non détectés NANCIE (2000)</li> <li>◆ aucun œuf viable n'est détecté (Gantzer 2001)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ réduction du nombre de kyste en début de stockage puis stagnation du nombre (Thiriart, 1998)</li> </ul>	
Boues chaulées (chaux vive)	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ rapidement absentes NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Aucun entérovirus détecté pendant les 9 mois de stockage NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Aucun parasite viable détecté pendant les 9 mois de stockage NANCIE (2000)</li> </ul>		
Boues compostées	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Aucune salmonelle détectée pendant les 9 mois de stockage NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Aucun entérovirus détecté pendant les 9 mois de stockage NANCIE (2000)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Aucun parasite viable détecté pendant les 9 mois de stockage NANCIE (2000)</li> </ul>		

Tableau 15 : résultats d'études de stockage de différentes boues.

### 1.3.3. SYNTHÈSE

La nécessité de stocker les boues est rendue incontournable du fait de la production continue à la STEP et de leur utilisation saisonnière en agriculture.

L'efficacité du stockage en terme de réduction des pathogènes des boues d'épuration dépend :

- De la nature du traitement des boues avant stockage qui détermine un certain nombre de caractéristiques des boues,
- Des caractéristiques du stockage : durée/température/ensoleillement/humidité.

Ainsi le stockage de boues d'aération prolongée déshydratées semble peu efficace sauf sur les salmonelles.

Les virus et les bactéries sont peu résistants au stockage si une durée minimale d'environ 4 mois est respectée tandis que les helminthes sont résistants au stockage et ne sont inactivés que si le traitement des boues est efficace et/ou la durée du stockage supérieure à 9 mois.

## 1.4. DEVENIR ENVIRONNEMENTAL DES PATHOGENES DES BOUES APRES EPANDAGE

Suite à l'épandage sur les sols agricole, les pathogènes des boues d'épuration peuvent survivre, selon les conditions environnementales, dans les sols et se retrouver potentiellement dans différents milieux environnementaux (sol, eau, air) selon les pratiques d'épandage et les conditions climatiques (vent, pluie).

Plusieurs études ont permis d'étudier la contamination de sols par des micro-organismes pathogènes après épandage de boues résiduelles.

### 1.4.1. SURVIE DANS LES SOLS

#### 1.4.1.1. FACTEURS DE SURVIE

Plusieurs facteurs interagissent de manière complexe sur la survie des agents pathogènes dans les sols. Il en résulte des données très hétérogènes sur le devenir dans les sols après épandage. Selon les organismes, les conditions du milieu et leur emplacement dans le sol, la survie varie de quelques jours à quelques semaines ou quelques mois (Berron 1984). Dans le cas le plus favorable à leur survie (période hivernale, couche profonde du sol), les virus et les bactéries peuvent survivre plusieurs mois et les œufs d'helminthes plusieurs années (Cadiergues 2000).

La **température** semble le facteur qui influence le plus la survie des pathogènes dans les sols amendés par des boues. D'après les résultats disponibles, à l'exception des coliformes fécaux, une diminution de la température favorise la survie dans les sols (NRC, 2002). Il faut souligner que la plupart des épandages se font en été, saison défavorable à la survie des pathogènes.

Les caractéristiques physiques des pathogènes, c'est à dire la forme sous laquelle ils se retrouvent dans l'environnement vont également fortement influencer leur survie : ainsi les formes sporulées des bactéries (*Clostridium spp.*), les virus

enveloppés, les œufs et les kystes de parasites sont plus aptes à se conserver dans l'environnement.

Enfin, l'écologie microbienne naturelle permet une mise en compétition avec les pathogènes des boues qui sont naturellement éliminés dans les sols.

Les principaux facteurs sont présentés dans le tableau suivant (Wray Bvm 1975; Smith 1996; EC 2001) mais leur impact sur la durée de vie des agents biologiques comprend encore de nombreuses incertitudes.

Paramètre	Impact durée de survie			
	Virus	Bactéries	Protozoaires	Helminthes
↗ Température	-	-	-	-
↗ Ensoleillement	-	-	-	-
↗ Humidité	+	+	+	+
↗ Dessèchement	-	-	-	-
↗ Contenu argileux du sol	+	+	?	+
↗ Capacité de rétention en eau du sol	?	+	+	+
pH 6-8	?	+	?	?
↗ Disponibilité de nutriments	/	+	?	?
↗ Présence de substances toxiques antimicrobiennes	/	-	/	/
↗ Microflore sol	?	-	+	?
↗ Couverture végétale	?	+	+	+
↗ Profondeur d'application	+	+	+	+

- : diminue la survie    + : augmente la survie    ? : effet inconnu    / : sans objet

*Tableau 16 : facteurs influençant la durée de vie des agents pathogènes dans le sol.*

#### 1.4.1.2. RESULTATS D'ETUDES

##### 1.4.1.2.1. Virus

La littérature montre que l'adsorption des virus au sol a un effet inactivant (libération et dégradation de l'acide nucléique). Des auteurs ont trouvé que des Réovirus élués du sol sont intacts mais présentent une faible infectiosité (Monpoého 2001). A contrario, l'adsorption peut avoir un effet protecteur en favorisant la survie des virus (protection contre les enzymes protéolytiques, les radiations UV, résistance à la désinfection...). Ainsi la survie des Entérovirus et des Rotavirus est prolongée dans des sédiments d'estuaires.

Une étude (Goyal et Gerba 1979 d'après Madeline 2003a) a montré que les sols ayant une acidité égale ou inférieure à 5 adsorbent plus facilement les virus.

La température et la capacité d'adsorption des virus en fonction des sols sont les 2 paramètres déterminants pour la survie des virus dans les sols.

#### 1.4.1.2.2. Bactéries

Comme celle des virus, la survie des bactéries dépend de la température, du pH et de l'humidité mais aussi de la présence de nutriments et de la luminosité (UV).

Les bactéries sont les pathogènes les plus sensibles aux conditions environnementales en dehors du tractus digestif de leur hôte et leur nombre décroît très rapidement lors de l'exposition à la lumière, à la dessiccation et aux phénomènes d'antagonismes exercés par la microflore naturelle des sols épandus (Smith 1996). Cependant, certaines bactéries dites « opportunistes » (pathogènes pour les personnes immunodéprimées) sont naturellement présentes dans les milieux naturels et adaptées pour y vivre.

Les phénomènes de recroissance sont caractéristiques des salmonelles et des coliformes fécaux. Ainsi, il est courant d'observer une recontamination des boues épandues après un épisode pluvieux (NRC 2002). Gibbs et al. (1997) ont ainsi observé la recroissance des salmonelles après de longues périodes de latence dans des sols ayant reçu des boues déshydratées et stabilisées par digestion anaérobie (concentration initiale dans le sol de 0,09 NPP/g et de 0,72 NPP/g de sol la 36<sup>ème</sup> semaine).

Le taux d'humidité, le type de sol, la présence de matière végétale en décomposition et la saison semblent être les principaux facteurs qui influencent la survie de *L. monocytogenes* dans le sol (Dowe 1997; Garrec 2003).

Les résultats des travaux de Vansteelant (2004) sur les épandages sur prairies de montagnes lui ont permis d'observer que les traitements appliqués aux boues, en modifiant notablement la structure de l'effluent, régissent en grande partie les possibilités de survie des bactéries sur prairies. La plupart des conditions testées (exposition, type de végétation, climat) se sont avérées sans influence significative sur les survies bactériennes. D'autres conditions ont montré une influence limitée (type de sol, importance des périodes de gel intense). Deux facteurs clés semblent régir les évolutions de populations bactériennes : la structure de l'effluent et la pluviométrie de la 1<sup>ère</sup> décade après l'épandage.

#### 1.4.1.2.3. Parasites

Peu de choses sont connues sur la survie des **protozoaires** (*Cryptosporidium* et *Giardia*) dans les sols (Rose 1997; Olson 1999).

D'après le rapport de l'AFSSA (2002), certains paramètres jouent un rôle majeur dans la diffusion des oocystes de *Cryptosporidium* et leur persistance dans l'environnement :

- Les oocystes sont viables plusieurs mois dans l'environnement mais ne s'y multiplient pas,
- La végétation a un rôle protecteur sur la viabilité des oocystes en favorisant leur microenfouissement dans le sol,
- Les fortes températures et la concentration tellurique en ammoniac diminue la survie des oocystes.

Une étude récente (Udeh et Veenstra 2003) a déterminé l'inactivation d'oocystes dans les sols en conditions réelles et essayé de la relier aux caractéristiques du sol. Après 120 jours dans le sol, la viabilité moyenne des oocystes de *Cryptosporidium* était de 10% bien qu'en certains points 30% des oocystes étaient

potentiellement infectants. Aucune corrélation statistiquement significative n'a été mise en évidence entre la viabilité des oocystes et les facteurs de sol mesurés.

Les **œufs d'helminthes** sont les plus résistants des pathogènes entériques, *T. saginata* et *Ascaris* sont très résistants à la dessiccation (Smith 1996). Ils peuvent survivre pendant plusieurs années surtout dans des sols argileux sous des climats tempérés. Même dans des conditions défavorables à leur survie, ils peuvent être retrouvés plusieurs semaines et jusqu'à 18 mois après l'épandage (Cadiergues 2000).

Dans les sols, les survies sont étalées sur une période large (entre < 1 mois et > 36 mois). Les durées importantes (>12 mois) sont observées dans les horizons profonds (> 10 cm) et dans les sols présentant un fort degré d'humidité (Gaspard 1995). Gaspard a réalisé des essais de survie d'œufs d'*Ascaris* sur des sols argilo-limoneux et sableux. Deux humidités et 2 températures ont été testées pour chaque type de sol. Les résultats montrent que l'humidité du sol est le facteur primordial favorisant une bonne survie des œufs avec cependant une forte influence de la température diminuant cette survie en sol sableux. Les conditions de survie les plus favorables ont été obtenues pour un sol argilo-limoneux à 30% d'humidité.

#### 1.4.2. TRANSFERT DANS LES DIFFERENTS MILIEUX ENVIRONNEMENTAUX

Les phénomènes d'adsorption et de désorption des agents biologiques sur les particules solides sont un des facteurs majeurs contrôlant leur transport dans l'environnement (Cadiergues 2000).

Le transfert des micro-organismes fait intervenir, ici encore, de nombreux facteurs (taille de l'agent pathogène, caractéristiques du sol, pluviométrie...).

##### 1.4.2.1. LES SOLS

On estime que 90 à 95% des pathogènes s'accumulent dans les premiers centimètres du sol qui joue le rôle de filtre. Le transfert à des profondeurs plus importantes du sol et donc la possibilité de contamination des eaux souterraines ne sont donc possibles que dans des conditions très particulières (pluviométrie importante, sécheresse prolongée, proximité de la nappe phréatique, sols filtrants à texture grossière) (ADEME 1994).

Le transport des micro-organismes dépend d'un nombre important de facteurs biotiques et abiotiques incluant la taille des micro-organismes, les processus d'adhésion, les effets de filtration, l'état physiologique des cellules, les caractéristiques du sol, la vitesse d'écoulement de l'eau, les phénomènes de prédation (NRC 2002).

Le potentiel de transfert des **virus** dans les sols est supérieur aux autres agents biologiques.

Différentes études ont montré que les sols à texture fine et les sols riches en argiles retiennent mieux les virus que les sols à textures grossières et riches en sable ou en matière organique (Cadiergues 2000). Les facteurs limitant le transport sont le pH et le point isoélectrique. A pH neutre, l'adhésion au sol est réduite. Quelques études sont disponibles sur le transport des virus des boues au sol mais elles ont pour la plupart été réalisées en laboratoire sur des colonnes de terre artificielles à partir de cultures virales pures (Smith 1996). Madeline (2003a)

cite une étude (Straub et al. 1995) ayant observé que les Poliovirus et Echovirus de boues épandues sur les sols migrent peu (moins de 10 cm) après 10 jours (adsorption importante au sol) tandis que d'autres Entérovirus comme Coxsackievirus B3 peuvent être détectés à 18 m de profondeur où les boues ont été épandues (migration verticale et latérale dans les sols).

Les données sur le transfert des **bactéries** pathogènes dans les sols concernent l'épandage direct d'eaux résiduaires (Smith 1996). Les études montrent que les bactéries sont retenues à la surface du sol du fait de phénomènes de filtration et d'adsorption aux particules du sol. Vansteelant (2004) a observé un stockage et une survie préférentiels des bactéries à la surface des sols lors d'épandage en prairies de montagne. Il semble que le transfert vertical des bactéries soit limité dans le temps mais puisse s'effectuer sur d'importantes distances suivant la structure des sols (Vansteelant 2004).

Le transport de **Cryptosporidium** dans le sol a été étudié en laboratoire (cité par (Rose 1997). Dans les 2 premiers centimètres, 73% des protozoaires sont retrouvés, 1,4% à 30 cm de profondeur. Plus récemment, Udeh (2003) a étudié l'inactivation des oocystes exposé pendant 60 jours à 10 cm de profondeur dans des sols agricoles dans certaines conditions (sol sableux, période peu pluvieuse...). Les résultats indiquent que l'inactivation était lente pendant les premiers 45 jours puis augmentait rapidement pour atteindre 25% d'inactivation des oocystes.

La couche externe des **œufs d'helminthes** et leur taille relativement importante limitent les facteurs de migration dans les sols (Gaspard 1995; Smith 1996). Une étude de simulation de l'évolution de la contamination parasitaire (modèle *Ascaris suum*) en climat continental tempéré après épandage de boues (Gaspard, Ambolet et al. 1997) a montré, dans les conditions retenues par l'auteur, qu'un taux résiduel de 10,8% d'œufs viables pourrait être obtenu en profondeur de sol (5-10 cm) après une année.

#### 1.4.2.2. L'EAU

L'eau constitue la voie principale de dissémination des agents pathogènes dans l'environnement par ruissellement et lessivage vers les eaux de surface. En principe, les pathogènes présents dans les boues peuvent contaminer les eaux de surface et les eaux souterraines si les phénomènes de ruissellement et de lessivage lors d'évènements pluvieux ou les fuites ne sont pas maîtrisés. Le ruissellement est généralement très limité sur des bandes enherbées.

Parce que les bactéries et les virus dans les boues sont fortement adsorbés à la matrice, ils ne sont habituellement pas désorbés dans le sol et il est peu probable qu'ils soient transportés vers l'eau souterraine par transfert vertical. Des travaux sont en cours à l'Institut national de la recherche agronomique (INRA) pour le démontrer. Par ailleurs, les œufs d'helminthes sont trop volumineux (larges) pour être transportés vers l'eau.

Aux Etats-Unis, aucune étude sur la contamination biologique de milieux aqueux en lien avec un épandage n'a été identifiée (NRC 2002).

Peu d'études ont permis d'étudier le transport vertical des micro-organismes dans les conditions naturelles d'épandage de boues. L'étude du transfert vertical des coliformes fécaux vers les eaux souterraines a fait l'objet de 2 travaux et aucun impact mesurable n'a pu être détecté (ArthurAndersen 2001).

Le transport a essentiellement été étudié pour les bactéries fécales lors de l'application de déjections animales sur des sols drainés (Jamieson 2002). Lors d'études à l'échelle du champ où des pratiques d'épandage conventionnelles étaient utilisées, on a observé une migration significative des bactéries vers les drains, qui dépendait de la structure du sol et du flux d'eau.

En France, la réglementation encadrant les plans d'épandage de boues d'épuration grâce au respect des distances entre la parcelle amendée et différents usages sensibles (points de prélèvement d'eau, systèmes de conduction d'eau, berges d'un plan ou cours d'eau, zones conchylicoles), permet la maîtrise du risque de contamination des ressources en eau.

#### 1.4.2.3. L'AIR

Les bioaérosols sont des particules biologiques mises en suspension dans l'air de diamètre compris entre 0,002 et 100  $\mu\text{m}$  (ACGIH 1999).

L'air est un vecteur de contamination par inhalation ou par ingestion en fonction de la granulométrie des particules. Dans le cas des bioaérosols, il s'agira principalement d'exposition directe par inhalation ou d'exposition indirecte par ingestion suite au dépôt atmosphérique.

Le rôle vecteur des agents pathogènes de bioaérosols pour l'exposition humaine dépend de nombreux facteurs (Altmeyer, Abadia et al. 1990) :

- Caractéristiques propres des agents (certains parasites, de par leur taille, ne peuvent être véhiculés dans l'air),
- Viabilité dans les aérosols (les formes non encapsulées ou non sporulées sont les plus fragiles),
- Conditions météorologiques locales permettant la dispersion du bioaérosol (vitesse et direction du vent, pluviométrie, température, ensoleillement).

Enfin, il existe de nombreuses incertitudes sur l'impact de la nature humide ou sèche de l'aérosol sur la survie des agents.

##### 1.4.2.3.1. Le matériel et les conditions d'épandage en France (Thirion et Chabot 2003)

La formation de bioaérosols dans le cadre d'un épandage des boues a deux origines possibles :

- l'épandage de boues industrielles liquides faisant intervenir l'utilisation de rampes munies de buses d'aspersion (en cas de vent, des embruns sont perceptibles) et l'épandage de boues très sèches (qui sont considérées comme hygiénisées);
- la formation de poussières suite au séchage du sol et des boues et à l'érosion naturelle (ou mécanique).

Par ailleurs, pour l'épandage des boues liquides, l'aérodispersion de brouillards fins est interdite par la réglementation (article 15 du décret du 8 décembre 1997). De ce fait, les buses des rampes d'épandage sont réglées de façon à ce que la majorité des gouttelettes formées ait un diamètre suffisant (supérieur à 4 ou 5  $\mu\text{m}$ ) pour être dégluties et non inhalées.

Enfin, pour les épandages de composts de boue, le matériel est semblable à celui utilisé en revégétalisation (section 1.4.2.3.3) à savoir des épandeurs à fumier.

#### 1.4.2.3.2. Epandage de boues

Il existe très peu de données sur les bioaérosols générés pendant l'épandage des boues (NRC 2002).

D'après une étude canadienne (Payment 1993), tous les travaux sur le sujet ont montré qu'il y avait peu de **virus** dans les aérosols produits lors de l'épandage de boues liquides.

Sorber et al. (1984) ont étudié des bioaérosols générés par l'épandage de boues liquides et n'ont pas détecté de virus entériques dans les échantillons analysés.

Pour les **bactéries**, quelques études peuvent être citées. Pillai (Pillai 1996) a mesuré les bioaérosols pendant une période de 4 mois durant l'épandage de boues ayant subi une digestion aérobie et anaérobie. En conditions peu ventées, aucune salmonelle n'est détectée dans les bioaérosols ni dans les zones résidentielles, malgré des concentrations élevées en coliformes fécaux (supérieures aux limites américaines). Les pathogènes indicateurs ont seulement été détectés dans l'air suivant une agitation intense des boues pendant leur chargement.

Les indicateurs de contamination fécale (coliformes et streptocoques fécaux), les salmonelles et les clostridies thermotolérantes ont été mesurés en conditions de fort vent dans l'air au niveau du chargement et de l'épandage de boues d'épuration urbaines ayant subi une digestion anaérobie et une déshydratation (Dowd 1997). Dans des lieux hors influence des zones d'épandage, les coliformes et les clostridies étaient indétectables. Au niveau des sites d'épandage, un maximum de 100 NPP salmonelles /m<sup>3</sup> a été mesuré (1/15 échantillons positifs, moyenne 70 NPP /m<sup>3</sup>, écart-type 70 NPP /m<sup>3</sup>) et un maximum de 220 UFC *Clostridium* /m<sup>3</sup> (4/15 échantillons positifs, moyenne 44 UFC /m<sup>3</sup>, écart-type 20 UFC /m<sup>3</sup>). Au niveau des sites de chargement des boues, une concentration maximale en salmonelles de 4 100 NPP /m<sup>3</sup> a été mesurée (4/15 échantillons positifs, moyenne 300 NPP /m<sup>3</sup>, écart-type 272 NPP /m<sup>3</sup>); pour les clostridies thermotolérantes, une concentration maximale de 1 700 UFC /m<sup>3</sup> a été mesurée (11/15 échantillons positifs, moyenne 680 UFC /m<sup>3</sup>, écart-type 180 UFC /m<sup>3</sup>). L'auteur attribue les différences observées entre le site de chargement et la parcelle d'épandage à l'agitation physique des boues au moment du chargement. Il précise qu'il existe une variabilité dans la quantification des bioaérosols qui résulte du vent, des conditions locales atmosphériques et/ou des méthodes d'échantillonnage.

Une revue de la littérature sur le risque sanitaire lié aux bioaérosols générés lors de l'épandage des boues a été récemment réalisée au Québec (Forcier 2002).

L'auteur cite une étude du NIOSH (NIOSH 2000) -qui n'est pas disponible sur le site du NIOSH- dans laquelle des bactéries entériques ont été détectées dans quelques échantillons d'air inhalé par les travailleurs qui opèrent l'épandage des boues mais la concentration en coliformes fécaux des boues était 4,5 fois supérieure à la limite autorisée pour les boues de classe B américaine et n'auraient donc pas du être épandues.

La modélisation de la dispersion de bioaérosols (*Salmonella* et coliphages F spécifiques, virus dévoreurs de coliformes fécaux) générés par l'aérodispersion sous haute pression (interdit en France) de boues liquides a été réalisée pour évaluer l'exposition, pendant 1 heure, de travailleurs situés à 100 m sous les vents

(vitesse de vent 2 m/s) des lieux d'application des boues (Dowd 2000). Les risques calculés pour ce scénario « pire cas » étaient respectivement de 3 et 2% pour le risque viral et bactérien. Les auteurs jugent le risque pour les populations riveraines extrêmement faible.

*Forcier (2002) conclut que le risque lié aux bioaérosols est jugé relativement faible pour les travailleurs et extrêmement faible pour la population générale.*

Aucun *Staphylococcus aureus* n'a été détecté dans l'air lors de l'épandage de boues traitées par aérodispersion ni dans les échantillons témoins d'air ambiant (Rusin et al. 2003).

Les résultats préliminaires d'une thèse en cours au Etats-Unis (B. Tanner, département de microbiologie et d'immunologie de l'Arizona) sur l'exposition aux bioaérosols pendant l'épandage de boues ont été présentés à un colloque londonien organisé par le SORP (Sustainable Organic Resources Partnership, [www.sorp.org](http://www.sorp.org)) en juillet 2004. Les questions posées sont les suivantes :

- Combien de microorganismes sont aérosolisés ? ;
- Quelle est la durée de l'exposition ? ;
- Quelle est la nature du panache de bioaérosols ? ;
- Est-ce que les paramètres environnementaux jouent un rôle ? ;
- Est-ce que la méthode d'épandage influence la vitesse de formation des bioaérosols ?.

Environ 500 échantillons d'air ont été collectés et analysés (bactéries hétérotrophes, coliformes et bacteriophages) pendant des épandages de boues liquides (2 et 7% MS).

Le bruit de fond a également été renseigné. Dans un environnement hors influence d'un épandage, les concentrations mesurées dans l'air sont comprises entre  $10^2$  et  $10^5$  bactéries hétérotrophes viables (HPC) / $m^3$ . Aucun coliforme ou coliphage n'est détecté.

L'aérosolisation pendant le chargement des boues est comprise entre  $10^2$  et  $10^6$  HPC / $m^3$  et  $10^1$ - $10^4$  coliformes / $m^3$ . Les coliphages sont uniquement détectés en situation de vent fort. Pendant l'épandage de boues liquides à 2% MS, les concentrations sont comprises entre  $10^4$  et  $10^5$  HPC / $m^3$  et  $10^1$ - $10^2$  coliformes / $m^3$ ; les coliphages ne sont pas détectés.

Pendant l'épandage de boues à 7% MS, aucun coliforme ou coliphage n'est détecté et les concentrations en HPC sont comprises entre  $10^4$  et  $10^5$  / $m^3$ . Très peu de germes indicateurs sont détectés, ce qui est expliqué par le fait que la majorité des microorganismes est adsorbée aux particules de boues et pas à la phase soluble qui est aérosolisée. Ces résultats viennent d'être publiés (Brooks et al. 2004).

La suite des travaux de thèse concerne la caractérisation du panache par l'étude de la dispersion d'eau inoculée par une tonne à lisier et des calculs préliminaires de flux (organisme/seconde) et de vitesse d'émission (organisme/mètre/seconde) sont présentés. Les coliformes totaux restent très près du sol, quelle que soit la concentration détectée, tandis que les coliphages sont retrouvés, pour les concentrations les plus faibles (< 5 PFU/ $m^3$ ), entre 3 et 4 mètres de haut. Ces résultats viennent d'être publiés (Tanner et al. 2005). Ils ont été complétés par la mesure et l'estimation des mêmes paramètres pour l'épandage de boues liquide

de classe B. Les résultats indiquent qu'aucun coliphage ou coliforme n'est détecté dans l'air sous les vents du panache. La vitesse d'aérosolisation pendant l'épandage est calculée et estimée inférieure à 33 PFU coliphage et 10 UFC coliformes par mètre parcouru par la tonne à lisier. La comparaison des données entre l'eau ensemencée et les boues liquides suggère que les boues liquides possèdent une propriété particulière réduisant l'aérosolisation des agents biologiques par rapport à l'eau ensemencée.

Ces travaux ont été complétés par un modèle de transport de virus élaboré à partir de campagnes de mesures de coliphage MS-2 entre 2 et 70 m sous les vents provenant de l'application par spray d'une eau ensemencée (Brooks et al. 2005a). Cette dernière étude montre que la plupart du temps, *E.coli* ne survit pas à l'aérosolisation (résultats en dessous de la limite de détection de 4,6 NPP/m<sup>3</sup>) tandis que les coliphages sont détectés jusqu'à 70 m sous les vents. Les auteurs précisent que, dans des études récentes sur le terrain, pendant l'épandage de boues liquides, les concentrations déterminées dans les bioaérosols étaient uniformément en dessous de la limite de détection.

Les mêmes auteurs viennent de publier un nouvel article (Brooks et al. 2005b) concernant l'analyse de 350 échantillons d'aérosols provenant de 10 sites américains d'épandage et collectés pendant les opérations de chargement, déchargement, épandage des boues. Les agents biologiques suivants ont été étudiés : bactéries HPC, coliformes totaux, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, coliphages, entérovirus, virus de l'hépatite A et norovirus. La plupart des boues étaient de classe B avec un pourcentage de matières sèches de 15% (« cake ») et épandues par épandeur ou par une autre technique dite de « slinging ». Quant aux boues liquides (2% MS) étudiées qui provenaient d'un seul site, elles étaient épandues par « spray tanker » ou par des techniques d'irrigation. Les résultats indiquent que pour les boues liquides épandues par spray tanker, les bactéries HPC sont retrouvées jusqu'à 20 m où leur concentration est proche de celle du niveau du bruit de fond ; les coliformes, *E. coli* et *C. perfringens* sont retrouvés jusqu'à 5 m. Pour les boues liquides épandues par irrigation, les coliformes, *C. perfringens* et les coliphages sont retrouvés jusqu'à 40 m. Pour les « cakes » épandus par tonne à lisier, les coliformes et *E. coli* sont retrouvés jusqu'à 15 m pendant l'opération de chargement des boues, *C. perfringens* est retrouvé jusqu'à 28 m pendant l'opération de déchargement des boues. Pour les « cakes » épandus par « slinging », des norovirus sont retrouvés jusqu'à 5 m pendant l'opération de chargement.

#### 1.4.2.3.3. Revégétalisation

Les niveaux et conditions d'exposition aux bioaérosols des postes de travail à risque en revégétalisation (compost de boues déshydratées de stations d'épuration et de fumier notamment) ont été étudiés récemment (Bolze 2002).

Les bioaérosols inhalés par les opérateurs ont été caractérisés qualitativement et quantitativement, les endotoxines ont été mesurées. Les fractions granulométriques et la dispersion des bioaérosols ont également été déterminées. Les prélèvements ont concerné le chauffeur de la machine à projeter et celui de la pelle mécanique chargé du rechargement.

A l'intérieur des 2 véhicules, les concentrations bactériennes sont supérieures à 5.10<sup>3</sup> UFC/m<sup>3</sup> avec une flore peu spécifique (absence de Gram négatif, de staphylocoques, d'actinomycètes thermophiles). Les concentrations en

champignons sont  $< 350 \text{ UFC/m}^3$  avec une prédominance de *Chrysosporium* détecté à 37 C. Les prélèvements d'ambiance concernent un point témoin, un prélèvement à proximité du talus nouvellement composté et un prélèvement à une quinzaine de mètre du talus hors projection. A 15 m du talus, les concentrations bactériennes et fongiques sont identiques à celles du témoin indiquant l'absence d'impact dans l'environnement proche de la projection du compost. Les endotoxines dans la cabine du chauffeur de la machine à projeter sont présentes à hauteur de  $11,4 \text{ EU/m}^3$  (selon l'espèce de bactéries Gram négatif qui produit l'endotoxine,  $1 \text{ ng/m}^3$  correspond à 10 à  $14 \text{ EU/m}^3$ ). La plus grosse partie des poussières a une granulométrie supérieure à  $5 \mu\text{m}$  pour des niveaux de concentrations en poussières totales d'environ  $0,89 \text{ mg/m}^3$ .

En complément et en comparaison, plusieurs études rapportent que les concentrations de divers bioaérosols mesurés à 100 m sous les vents d'installations de compostage de boues urbaines n'étaient pas significativement plus élevées que celles mesurées en dehors de l'influence des sites (Lavoie 2000, Millner 1994 d'après Forcier 2002).

Il n'existe pas à notre connaissance d'étude concernant le devenir des aérosols liés aux sites d'épandage de composts de boues.

#### 1.4.2.4. VEGETAUX

La survie des micro-organismes sur les végétaux est beaucoup plus courte que dans les sols à cause du dessèchement et de la lumière. Ainsi plusieurs études ont mis en évidence une augmentation de la mortalité des bactéries sur les feuilles des végétaux cultivés sur des sols épandus par des boues à cause de l'ensoleillement et de la dessiccation.

Virus et protozoaires sont sensibles à la dessiccation : les kystes d'*Entamoeba histolytica* ne survivent pas plus de 3 jours, les virus seraient éliminés en 24 jours des végétaux. Les œufs de *Taenia* sont sensibles à la dessiccation et leur survie sur les pâtures serait au plus de 2 à 6 mois. La viabilité des œufs de *Taenia* et *Ascaris* est diminuée par les attaques fongiques et la dégénérescence des œufs (Smith 1996). Certaines études ont montré la persistance d'œufs de *Taenia* 6 à 7 mois après épandage. Les œufs doivent bénéficier d'une humidité suffisante sinon la persistance reste limitée à des durées inférieures à un mois sur des cultures de tomates et de salades en période estivale (Gaspard 1995).

La survie des pathogènes sur les végétaux est présentée dans le tableau suivant (d'après WHO 1989 cité par (ArthurAndersen 2001).

Pathogènes	Survie sur les végétaux
Bactéries : salmonelle, coliformes	$< 100$ jours (souvent $< 20$ j)
Virus (entérovirus)	$< 60$ j (souvent $< 15$ j)
Protozoaires ( <i>Entamoeba histolytica</i> )	$< 10$ j (souvent $< 2$ j)
Helminthes ( <i>Ascaris sp</i> , <i>Taenia saginata</i> )	$< 60$ j (souvent $< 30$ j)

Tableau 17 : survie des pathogènes sur les végétaux (WHO 1989).

L'ensemble de ces données montre qu'il existe une grande variabilité des durées de survie en fonction de l'origine des boues et des conditions environnementales avec cependant un ordre de grandeur similaire (peu de survie après 2 mois).

La contamination de végétaux, notamment des laitues, par des *Salmonella thyphimurium* inoculées à des boues d'épuration sur lesquelles on a fait pousser les légumes est rapportée dans la littérature (Horswell, 2004; Larkin, 1977). Les bactéries sont détectées jusqu'à 4 à 6 semaines après semis. Deux voies de contamination sont envisagées : soit le contact direct entre les feuilles et le sol contaminé par les boues pendant la croissance de la plante et internalisation des cellules à travers le stomate soit passage des pathogènes par les racines et transport jusqu'au parties comestibles (Horswell, 2004).

Le transfert d'*E. coli* O157 :H7 à des laitues via l'utilisation d'eau d'irrigation et de fumier a déjà été mis en évidence (Solomon 2002).

Les limites de ces études (et de celles non décrites ici qui existent dans la littérature sur cette thématique) est que les doses employées sont fortes, les matrices sont rarement des boues et le plus souvent des eaux contaminées et des fumiers/lisiers et les résultats sont sur des cultures maraîchères. Cela est donc à remettre en perspective avec les pratiques d'épandage en France (dose et délais prescrits pour certaines cultures).

La contamination des herbes de prairies de fauche par des salmonelles après un épandage de boues d'épuration a été étudié sur la commune de Courcouron (07) au printemps 1998 (Chambred'Agriculture07 1998). La station d'épuration (2000 EH) de type lagunage aéré, traite les effluents urbains (25%) et les effluents de 2 fromageries. L'analyse microbiologique des boues en mars 1998 n'a pas montré de contamination particulière par des salmonelles, helminthes ou entérovirus. La recherche des salmonelles a été réalisée sur des échantillons d'herbe (plante entière). Le suivi a porté sur 5 sites de prélèvements dont un site témoin. Les prélèvements ont été réalisés au moment de l'épandage et 3, 6 et 9 semaines après. L'analyse des boues au moment de l'épandage a montré la présence de *Salmonella enteritidis* mais les analyses effectuées sur l'herbe ont été négatives dans leur ensemble, bien que les conditions climatiques aient été favorables à leur survie.

L'utilisation de boues d'épuration en **vergers** et l'impact sur la qualité des productions fruitières ont été étudiés dans le cadre d'un mémoire de l'Institut National Agronomique (Boisselier 1997). L'étude a été menée dans la basse vallée de l'Ardèche où est pratiquée la culture de pêchers. Les boues proviennent d'une station (24 000 EH) pratiquant un traitement biologique à aération prolongée avec épaissement des boues sur table d'égouttage combinée à un filtre à bande (production de boues pâteuses à 12 – 13% de siccité) ; les effluents traités sont d'origine urbaine et industrielle (textile, abattoirs, agroalimentaire). La station ne possède pas de site de stockage.

En arboriculture, les boues sont préférentiellement utilisées avant la plantation et à la fin de l'été. Les boues liquides sont privilégiées et les épandages sont interrompus à la floraison (le délai entre le dernier épandage et la récolte de fruits est d'environ 4 mois).

La parcelle étudiée pour le volet microbiologie est située sur un sol sableux (60 cm) avec présence de la nappe à 70 cm. L'épandage est pratiqué dans les

conditions habituelles, « sur le rang » (non enfouies), par projection des boues au bas des arbres alors que les fruits sont déjà formés contrairement à ce qui est recommandé. Les boues épandues sont non traitées. Les agents pathogènes recherchés concernent les salmonelles et les œufs d'helminthes (pas d'étude de la viabilité) dans les boues (jour de l'épandage et à la récolte) et les fruits (peau des pêches). Cinq séries de prélèvement dans le temps ont été réalisées.

Les boues ont été analysées au moment de la récolte, environ 2 mois après l'épandage. Des œufs d'*Ascaris* (30 /g MS) et de *Trichure* (10 /g MS) ont été détectés. La recherche des salmonelles a été négative. Aucune contamination des fruits par les parasites (seuil de détection 5 œufs /g MS) ou les salmonelles n'a été mise en évidence sur l'ensemble des échantillons analysés.

#### **1.4.3. CONTAMINATION DES ANIMAUX EN PATURE SUITE A UN EPANDAGE DE BOUES**

Aucune étude publiée à ce jour n'implique des vecteurs animaux dans la transmission à l'homme des pathogènes contenus dans les boues épandues (NRC 2002).

En France, un délai de 6 semaines est obligatoire pour les boues non hygiénisées (3 semaines pour les boues hyginisées) avant la remise en pâture d'animaux sur des parcelles épandues (arrêté du 8/01/1998).

Les données expérimentales et épidémiologiques sur la contamination des animaux sur pâture à la suite de l'épandage des boues d'épuration ont été analysées dans un ouvrage récent (ADEME 1999). Des cas isolés de salmonelloses et de cysticercoses de bétail ont été rapportés en Suisse, Allemagne, Pays-bas, Royaume-Uni, Danemark et USA. Ils étaient toutefois liés à de mauvaises pratiques d'épandage (application de boues non traitées, non respect des délais entre l'épandage et la mise en pâture) et représentent une faible proportion par rapport aux cas en lien avec l'épandage d'eaux usées brutes, effluent d'élevage, fosses septiques, matières de vidange ou l'ingestion d'ensilages complétés de boues non traitées.

Une revue de la littérature très complète a été réalisée sur le **risque de cysticercose** en lien avec l'épandage de boues urbaines sur pâture (Cabaret, Geerts et al. 2002). *Taenia saginata* est le principal problème pour la santé humaine et animale car il est retrouvé dans pratiquement toutes les boues qui ont fait l'objet d'une analyse parasitaire. Chez le bétail infecté, les cysterques (larves du parasite) sont retrouvés dans les tissus musculaires, principalement au niveau du cœur. Des cas isolés d'infection de bétail ont été rapportés aux USA en 1978 mais ils résultaient de l'application répétée de boues non traitées avec seulement 2 à 3 semaines de délai avant la mise en pâture des animaux. Le risque de dissémination des *T. saginata* via l'épandage des boues sur pâture est vraisemblablement faible si les boues sont traitées et épandues dans les conditions préconisées par la réglementation.

Un projet de recherche « Epandage de boues d'épuration urbaines sur les prairies : risque de cysticercose pour les ruminants et de téniasis pour l'homme » a été réalisé dans le cadre du programme AGREDE (INRA/ADEME) (INRA 2003). La première étape de ce projet a consisté à étudier la contamination de bovins par des boues liquides non hygiénisées administrées pendant 10 jours. Ces boues liquides étaient peu infestées par les ténias (d'un à quelques œufs par gramme de matière sèche avec une viabilité d'environ 40%). Dès le 35<sup>ème</sup> jour de

l'administration de boues, les animaux ont présenté des réponses immunes contre le parasite. L'examen des carcasses après abattage a montré la présence de quelques cysticerques sur le cœur (1 à 6). Pour se placer dans les conditions imposées par la réglementation, la 2<sup>ème</sup> étape du projet a consisté à placer des bovins sur des prairies 6 semaines après épandage de boues ; les bovins ont été abattus après 5 mois de pâturage. Tous les animaux étudiés étaient indemnes de téniasis larvaire.

Une cellule nationale de veille sanitaire vétérinaire des épandages de boues d'épuration urbaines, coordonnée par le centre national d'information toxicologique vétérinaire (CNITV-Lyon) et par l'ADEME, est chargée de recueillir les déclarations de pathologies vétérinaires potentiellement liées à des épandages de boues. Elle a fonctionné de 1986 à 1990 puis s'est arrêtée, vu la faiblesse du nombre de signalement (1 seul).

Depuis sa relance en 1997, la cellule a reçu peu de demandes (32 appels dont 14 faisaient état d'une possible implication de l'épandage des boues dans l'apparition de pathologies animales). Aucune n'a abouti à établir la responsabilité des boues. Six bilans des cas enregistrés ont été réalisés de 1999 à 2004 (disponibles sur le site de l'ADEME <http://www.ademe.fr> ).

#### **1.4.4. SYNTHÈSE**

La survie dans les sols dépend de nombreux paramètres liés aux caractéristiques de la boue, aux conditions d'épandage et aux conditions climatiques.

Globalement, les virus et les bactéries ont des durées de vie assez courtes dans les sols tandis que les helminthes peuvent survivre pendant plusieurs mois après épandage. Cependant, l'action de nombreux facteurs défavorables en terre labourable limite la survie et la présence dans l'horizon superficiel à une durée comprise entre 30 et 90 jours (Gaspard 1995). La survie de protozoaires est mal connue.

Après épandage, la majorité des pathogènes s'accumulent dans les premiers centimètres du sol.

L'eau constitue la principale voie de dissémination des pathogènes dans l'environnement.

La contamination des eaux souterraines est peu probable : elle n'est envisageable que dans des conditions particulières qui sont normalement maîtrisées lors de la définition du plan d'épandage et de sa réalisation.

La contamination des eaux de surface peut théoriquement se produire par ruissellement/lessivage des sols lors d'événements pluvieux après épandage. Le ruissellement est généralement très limité sur des bandes enherbées. Aucune étude, en l'état des connaissances actuelles, n'a mis en cause le rôle des boues épandues dans la contamination des eaux de surface.

La contamination de l'air suite à un épandage n'est possible que lors de l'utilisation de rampes équipées de buses d'aspersion pour les boues liquides et ce en conditions ventées, car en France, l'épandage est interdit à l'aide de dispositifs d'aérodispersion qui produisent des brouillards fins (article 15 du décret du 8 décembre 1997). En conditions normales, l'aérosolisation des pathogènes est peu probable : les résultats d'études disponibles indiquent que le risque lié aux

bioaérosols pour les travailleurs et les riverains exposés est jugé relativement faible.

La survie des pathogènes sur les végétaux est souvent inférieure à 1 mois du fait de l'inactivation par le dessèchement et la lumière. En Ardèche, aucune salmonelle n'a été détectée sur des herbes de prairies de fauche après un épandage de boues (Chambred'Agriculture07 1998).

Aucune étude publiée ne montre la transmission à l'homme de pathogènes venant d'animaux ayant pâturé sur une parcelle épandue. La cellule nationale de veille sanitaire vétérinaire n'a jamais établi de lien direct entre l'épandage des boues et des accidents pathologiques depuis le début de son fonctionnement.

## **1.5. AUTRES SOURCES DE PATHOGENES DANS L'ENVIRONNEMENT**

Les sols agricoles sur lesquels se pratiquent les épandages peuvent également être concernés par l'épandage des effluents d'élevage. Ainsi, les déjections d'animaux domestiques (ou sauvages), porteurs d'organismes pathogènes, constituent un bruit de fond particulièrement important des milieux environnementaux (sols et eaux de surface).

### **1.5.1. EFFLUENTS D'ELEVAGE**

#### 1.5.1.1. CARACTERISATION BIOLOGIQUE

Les principaux agents biologiques de zoonoses alimentaires retrouvés dans les effluents d'élevage sont les salmonelles non typhi, *Campylobacter spp.*, *Yersinia spp.*, *E. coli* O157 : H7, *Listeria spp.*, *Cryptosporidium* et *Giardia*.

Le nombre et le type d'agents pathogènes présents dans les effluents d'élevage varient en fonction de l'espèce animale, du lieu géographique, de la composition physico-chimique de l'effluent (Bicudo et Goyal 2003). D'après une étude récente (Nicholson et al. 2000) citée par Tyrrel (Tyrrel et Quinton 2003), il y a actuellement un défaut de données sur les niveaux de contamination courants dans les fumiers animaux.

Des échantillons de lisier (n=43), avec ou sans séparation mécanique des phases solides et liquides, stockés pendant 4 mois et provenant d'un élevage de porcs en Irlande ont été analysés pour étudier la présence de 5 pathogènes (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli* O157 et *Yersinia enterocolitica*) (Watabe 2003). *Salmonella spp.* a été identifiée dans tous les échantillons tandis que *Campylobacter spp.* a seulement été identifiée dans les fractions liquides du lisier. Pour ces 2 pathogènes, c'est la fraction liquide séparée qui présente la plus grande prévalence de germes et la fraction solide séparée la plus basse prévalence. Aucun des échantillons examinés n'a été positif pour *E. coli* O157, *Shigella spp.* ou *Yersinia enterocolitica*. A partir des échantillons, 29 isolats de salmonelles ont été sérotypés. Sept sérovars ont été identifiés, parmi lesquels *S. manhattan* représentait 50% des isolats.

Les moutons sont également des réservoirs de pathogènes (Zweifel, Zychowska et al. 2004) : *E. coli* producteur de shiga-toxine, *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* et *Campylobacter spp.* (*jejuni* et *coli*).

En France, plus de 75% des fumiers de bovins contiennent des **helminthes** (cité par Vansteelant 2004). Les données de prévalence de cysticerose bovine les plus récentes (Cabaret, 2002) concernent l'Espagne et l'Italie (données 1999) avec des valeurs comprises entre 0,007 et 2,4%. L'auteur souligne toutefois que la majorité des cas de cysticerose passent inaperçus à l'abattoir avec les méthodes de détection actuelles.

#### 1.5.1.1.1. Salmonelles

Le principal réservoir de **salmonelles** est constitué par le tractus intestinal des animaux qui sont souvent contaminés par l'alimentation (contamination des matières premières comme les tourteaux ou lors de la fabrication des aliments (AFSSA 2000a) ou l'eau de boisson).

La volaille est une source significative de salmonelles et particulièrement de *S. enteritidis* en Europe (Murray 1991).

Chez le bétail, on retrouve plus fréquemment *S. Dublin*, *S. Typhimurium*, *S. Newport* et *S. Montevideo* ; chez les porcs, on observe les sérotypes *S. choleraesuis*, et *S. Typhimurium* ; enfin, chez les ovins et caprins, on retrouve *S. Typhimurium*, *S. Arizonae*, *S. Abortusovis* et *S. Dublin* (Herau, 2003).

La prévalence des salmonelles chez les animaux de rente est rapportée dans quelques études citée par Herau (2003) : 0 à 3% chez le bovin (14 études), 1,5 à 5,1% chez le porc (3 études) et 4,8% chez les caprins (1 étude). Quant aux porcs, Herau (2003) a relevé des valeurs récentes allant de 5 à 25% de prévalence.

Bigras-Poulin (2004) rapporte des concentrations dans les fécès comprises entre  $10^4$ - $10^7$  UFC/g chez les bovins,  $10^1$ - $10^{7,3}$  UFC/g chez la volaille et  $10$ - $10^3$  UFC/g chez les porcs.

La contamination naturelle de lisiers de bovins a été étudiée par l'Institut de l'élevage au niveau de 20 élevages (Marly 1995). Après un épisode clinique (mois 0), la contamination du lisier décroît relativement vite et, au mois 4, les concentrations sont comprises entre  $10^{0,5}$  et  $10^2$  salmonelles /mL.

Des concentrations variant entre  $10^2$  et  $10^3$  NPP/mL ( $10^3$ - $10^5$  NPP/g MS) ont été mesurées dans les échantillons de lisier /purin au niveau de 5 abattoirs français (Hydro-M 2004).

Chez les troupeaux infectés, on peut trouver jusqu'à  $10^4$  salmonelles/mL dans les déjections liquides d'animaux. Le taux d'animaux d'élevage porteurs sains peut atteindre, selon les régions, le tiers des porcs et la moitié des veaux. La survie des *Salmonella* après excrétion peut être très longue (survie maximale de 1000 jours rapportée pour des fécès de bétail) (Vansteelant 2004).

Le transport à l'abattoir est connu pour augmenter l'excrétion de salmonelles chez les porcs à cause d'un stress influençant le mouvement des intestins (Burton et Turner 2003).

En fonction de la durée et des conditions de stockage, les effluents d'élevage peuvent contenir plus ou moins de bactéries. Dans une étude allemande citée par Burton (2003), la concentration en salmonelles dans les fumiers était d'environ 10 UFC/50 g.

L'AFSSA de Ploufragan (22) possède des données sur les *Salmonella* excrétées dans les matières fécales de la **filière porcine**. Dans une étude récente (Fravalo

2002), les auteurs ont réalisé des analyses sur 224 échantillons de fécès de porcs conventionnels. Parmi ceux-ci, 80,8% des échantillons étaient négatifs. Parmi les 20,2% d'échantillons positifs, 70% contiennent moins de 10 salmonelles par g et 30% contiennent plus de  $8,9 \cdot 10^2$  salmonelles par g de fécès. Ceci est à comparer avec le taux de contamination des boues non traitées en salmonelles qui est habituellement beaucoup plus élevée (60-90%).

La distribution des sérovars de salmonelles dans les milieux environnementaux constitue une information importante dans la compréhension de l'épidémiologie des infections humaines et animales. La plupart des infections sont associées aux sérovars de la sous-espèce I (par exemple *S. thyphimurium*). En France, 70% des toxi-infections alimentaires collectives sont dues à l'ingestion d'aliments contaminés (œufs, ovoproduits, viandes insuffisamment cuites) par *Salmonella* spp. (le séovar *S. enteritidis* demeure prédominant en 1998) (AFSSA 2004).

#### 1.5.1.1.2. Campylobacter spp.

Les **campylobacters thermophiles** sont largement répandues dans l'environnement où elles sont le signe d'une contamination récente par des déjections animales ou aviaires, des effluents agricoles ou résiduaux (Jones 2001). Le portage intestinal des campylobacters est ubiquitaire chez le bétail, les animaux domestiques, les animaux sauvages, les oiseaux sauvages et surtout la volaille. La contamination de l'environnement par les déjections animales est intermittente et varie de façon saisonnière en fonction de facteurs tels que le stress ou le changement de régime alimentaire des animaux.

Le lait, la viande hachée, les chats, les chiens et la volaille se sont révélés être d'importantes sources d'infection humaine par *C. jejuni*. Cette dernière est largement présente dans les intestins des animaux domestiques et sauvages mais elle est rarement isolée chez l'homme.

*C. coli* est présente dans le tractus intestinal des porcs, de la volaille et de l'homme (Burton et Turner 2003).

La prévalence des *Campylobacter* spp., d'après les études citées par Herau (2003) est de l'ordre de 0,5 à 38,5% des bovins (9 études) et de 15,3 à 29,3% des ovins (3 études).

La prévalence des campylobacters chez les volailles est variable suivant l'âge des poulets, les pays et la saison (la plupart des études mettent en évidence un pic de contamination en fin d'été et début d'automne). Lorsque la contamination est installée, elle touche la totalité des animaux avec de forts niveaux de contamination (jusqu'à plus de  $10^9$  UFC/g de fientes) (AFSSA 2003b).

Bigras-poulin (2004) rapporte des concentrations de la littérature comprises entre  $10^{2,8}$ - $10^{4,5}$  UFC/g chez les bovins,  $10^{5,6}$ - $10^{7,9}$  UFC/g chez la volaille et  $10^2$ - $10^7$  UFC/g chez les porcs.

Aucune souche n'a été isolée dans les échantillons de lisier/purin de l'étude française au niveau de 5 abattoirs (Hydro-M 2004).

#### 1.5.1.1.3. Yersinia spp.

Le porc est un important réservoir de *Yersinia*. Dans une étude russe, cette bactérie a été détectée dans 25% des échantillons d'eau de puits dans une zone épandue avec des lisiers d'un élevage de porcs (Bicudo et Goyal 2003). Le

groupe O3 est présent chez les porcs tandis que les groupes O3, O8 et O9 sont présents chez l'homme. Une entérotoxine thermostable est produite à 30°C.

Les données de prévalence chez les bovins rapportées par Herau (2003) sont de l'ordre de 0 à 2% (3 études).

Aucune souche n'a été isolée dans les échantillons de lisier/purin de l'étude française au niveau de 5 abattoirs (Hydro-M 2004).

#### 1.5.1.1.4. *E. coli* vérotoxique

La présence des ***E. coli* vérotoxique** (VTEC) et des *E. coli* O157:H7 a été investiguée en France (Vernozy-Rozand et Montet 2001). Des échantillons (n=227) provenant d'élevages de porcs (fécès, fosse à lisier, préfosse, fumiers, compost) et 223 échantillons provenant d'élevages de vaches laitières (fécès, fosses à lisier, fumiers) ont été testés. Des échantillons provenant des vaches laitières (8%) et de porcs (12%) sont positifs pour le gène stx codant pour la vérotoxine (contre 30% des échantillons provenant des stations d'épuration). Aucune *E. coli* O157:H7 n'a été isolée des échantillons d'effluents d'élevage.

Dans une étude récente portant sur les *E. coli* vérotoxiques présents dans les fumiers et les lisiers animaux (Duffy 2003), l'auteur cite une étude française (Montet et al., 1999) faisant état d'une prévalence de 0,3% (total de 300 échantillons) d' *E. coli* O157:H7 dans les fécès de génisses après passage à l'abattoir. Une autre étude citée (Pradel et al., 2000) rapporte une prévalence de 70% (total de 471 échantillons) d' *E. coli* vérotoxiques dans les fécès de bétail et analyse les sérotypes identifiés.

Un rapport très complet de l'AFSSA a fait le point sur les connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines (STEC) (AFSSA 2003c). Les réservoirs animaux principaux sont les bovins et les ovins mais d'autres animaux d'élevage ou des animaux sauvages peuvent être également porteurs de STEC. Ces bactéries sont retrouvées chez 20 à 80% des bovins mais *E. coli* O157:H7 n'est isolée que chez très peu d'animaux (en Europe, 0 à 3% d'après l'étude analysée). Les données de contamination sont rares : l'AFSSA cite des valeurs de 2 études américaines faisant état de taux d'excrétion d'*E. coli* O157:H7 variant entre  $10^3$  et  $10^5$  UFC/g fécès de veaux pour la première étude et de  $2 \cdot 10^2$  et  $8,7 \cdot 10^4$  UFC/g fécès de bovin laitier adulte.

Un article récent (Bigras-Poulin 2004) rapporte des concentrations de la littérature comprises entre  $10^2$ - $10^5$  UFC/g fécès chez les bovins.

Aucune *E. coli* O157:H7 n'a été isolée dans les échantillons de lisier/purin de l'étude française au niveau de 5 abattoirs (Hydro-M 2004).

#### 1.5.1.1.5. *Listeria* spp.

Le portage de ***L. monocytogenes*** par les animaux d'élevage dépend de leur mode d'alimentation (origine, humidité...), les ensilages et végétaux frais favorisant le portage (AFSSA 2000).

Des études dans des élevages de porcs ont montré que la contamination des animaux était faible avec une prédominance de *L. monocytogenes* sérovar 4b. L'alimentation jouerait un grand rôle dans la contamination, certains auteurs ayant remarqué que les porcs nourris avec des granulés secs n'excrètent

*L. monocytogenes* dans les matières fécales que dans 2% des cas (contre 25 à 50% pour des porcs nourris avec des « soupes » fabriquées à la ferme).

En élevage avicole, les contaminations s'avèrent faibles (2,4 à 7,2% de prélèvements positifs). Aucun *L. monocytogenes* sérovar 4b n'a été mis en évidence dans les élevages enquêtés (AFSSA 2000b).

Des concentrations variant entre 18 et 75 NPP/mL ( $10^2$ - $10^4$  NPP/g MS) ont été mesurées dans les échantillons de lisier /purin au niveau de 5 abattoirs français (Hydro-M 2004).

#### 1.5.1.1.6. *Cryptosporidium* sp.

La majorité des animaux de ferme (80%) est entrée en contact avec ***Cryptosporidium*** à un moment ou à un autre de l'élevage. Les jeunes animaux sont les plus sujets aux infections.

Dans une région américaine très dense en élevage bovin, des échantillons de fumiers provenant de 50 fermes ont été analysés (Graczyk 2000). Les concentrations déterminées variaient de 90 à 371 oocystes/g (moyenne de 118 oocystes/g de fécès pour les fumiers positifs) et étaient significativement plus élevées dans les échantillons provenant de veaux que de vaches et vaches/génisses.

Le taux de prévalence moyen des infections à *Cryptosporidium* varie selon les espèces : 18 à 60% chez les veaux (l'infection à *Cryptosporidium parvum* demeure en général asymptomatique chez les bovins adultes), 55% chez les caprins, 10% pour les chiens. Les porcs sont les moins réceptifs et sensibles au pathogène ; les animaux sauvages sont de plus en plus impliqués dans les infections à *Cryptosporidium* avec des espèces non *parvum* (AFSSA 2002).

Des facteurs liés aux parasites, aux animaux et aux modes d'élevage influencent l'émission d'oocystes. L'excrétion fécale par le veau est très élevée de l'ordre de  $7.10^6$  oocystes/g de fécès (jusqu'à  $2.10^{10}$  oocystes/g de fécès au pic d'excrétion).

L'excrétion chez les bovins adultes est évaluée de  $9.10^2$  à  $1,8.10^4$  oocystes/g de fécès. Les oocystes peuvent survivre plusieurs mois dans les matières fécales (AFSSA 2002).

#### 1.5.1.1.7. Autres germes

Il n'existe pas d'étude de prévalence de giardiose chez les animaux d'élevage en France. Une revue de la littérature indique que les animaux les plus concernés sont les bovins et les ovins (Thiriat 1998). Les infections animales à ***Giardia*** sont souvent prévalentes chez les jeunes animaux (Hooda 2000). Au contraire de *C. parvum*, le potentiel d'infection humaine par des *Giardia* provenant d'effluents d'élevage est controversé et reste à prouver (Bicudo et Goyal 2003).

Des **entérovirus** porcins ont été retrouvés dans le sol, les eaux de ruissellement et les eaux de surface autour de fermes de l'Ontario où du lisier avait été épandu sur des chaumes de foin 8 jours plus tôt (étude citée par Bicudo, 2003).

Les staphylocoques sont présents en quantité importante dans les lisiers/purins (Hydro-M 2004) à des taux compris entre  $10^5$  et  $10^6$  UFC/mL.

#### 1.5.1.2. TRANSFERT DANS LES MILIEUX

La survie des agents pathogènes après épandage des effluents d'élevage dépend du type de déchets (solide ou liquide), de sa manipulation et gestion, de la période de l'année, de la présence/absence de couverture végétale, de l'écosystème du sol, des propriétés du sol et de facteurs environnementaux.

Des travaux cités par Hooda (2000) suggèrent que les **salmonelles** peuvent survivre de 3 jours à 36 mois dans les excréments animaux et de 5 à 968 jours dans le sol, aussi une pollution de l'eau peut se produire des mois après l'épandage des effluents animaux.

Le CEMAGREF (Bouedo, Bertru et al. 1991) a étudié le risque de contamination fécale de l'eau des rivières à partir des épandages de lisiers de porcs en hiver sur prairie. A partir d'échantillons prélevés (sol, végétaux) dans 3 situations (sol nu, sol couvert de végétation rase et végétation haute), les coliformes et les streptocoques fécaux ont été dénombrés ainsi que la part respective de bactéries « libres » et « fixées » pour avoir une appréciation du risque d'entraînement. Les résultats sur sol nu (surface et profondeur) montrent que les bactéries sont plus nombreuses dans la fraction « fixée » que dans la fraction « libre ». Le niveau mesuré en profondeur (50-60 mm) reste faible par rapport au niveau en surface et montre donc une faible migration des bactéries en profondeur en l'absence de pluie. Lors de l'épandage sur sol enherbé, la végétation semble protéger les bactéries des rayons solaires, le taux de matière organique élevé sur le système racinaire permet également une meilleure persistance des bactéries. L'étude de persistance montre que les indicateurs de contamination fécale sont présents dans les milieux pendant les 4 premières semaines après épandage et créent un risque de contamination fécale en cas de pluie abondante. Toutes les mesures (surfaces, conditions d'épandage) doivent donc être prises pour limiter le risque de ruissellement.

Plusieurs études ont été menées pour investiguer l'impact des effluents d'élevage sur les eaux de surface. Dans la plupart de cas, il n'a pas été possible de distinguer l'origine animale ou humaine des contaminations (Bicudo et Goyal 2003). Hooda (Hooda 2000) est plus affirmatif et rapporte des cas de contamination fécale dans des cours d'eau drainant des fermes laitières, des eaux de ruissellement de champs épandus, des eaux de ruissellement de pâturage et de champs d'herbe traités avec des déjections de volaille.

Une étude de la contamination bactérienne de 7 sites de prélèvement d'eaux de surface et d'eaux souterraines en zone montagneuse suisse (Schaffter et Parriaux 2002) a montré que les pathogènes les plus courants sont les *Campylobacter* et les *Listeria*. Les salmonelles n'ont jamais été isolées. Plusieurs facteurs ont été étudiés pour expliquer la présence des bactéries pathogènes dans l'eau : facteurs liés à la présence d'élevage et/ou d'épandage d'effluents agricoles et facteurs hydrogéoclimatiques (pluie, neige, vitesse de ruissellement, température, gel). La pluie est généralement un facteur important ; la température et la présence d'élevages sont les facteurs les plus significatifs respectivement pour les eaux de surface et les eaux souterraines.

Au Royaume-Uni, *Cryptosporidium* est connu pour avoir contaminé les eaux des bassins versants où se trouvaient des élevages laitiers. Ainsi Hooda (2000) a montré que 70% des eaux de surface autour d'une exploitation suivie pendant

18 mois étaient contaminés par *Cryptosporidium*. Une corrélation avec les fortes pluies a été mise en évidence et non avec l'épandage.

La recherche d'oocystes dans les ruisseaux autour de 11 fermes bovines laitières des Etats-Unis a montré que 36% des ruisseaux étaient contaminés ; l'épandage sur les champs semble le facteur de risque principal (Sischo et al. 2000 cité par AFSSA 2002). Quelques épidémies humaines ont directement été reliées aux effluents d'élevage (Hooda 2000; Bicudo et Goyal 2003).

Une étude (Bodley-Tickell 2002) de 17 mois a été menée au Royaume-Uni pour suivre la contamination en oocystes de *Cryptosporidium parvum* des eaux de surface drainant un élevage de bovins. Les résultats ont montré que le parasite était détecté toute l'année avec une fréquence de détection et une concentration maximale mesurées pendant l'automne et l'hiver. Des échantillons prélevés autour de la ferme étaient positifs (66%). Les concentrations les plus élevées coïncidaient avec l'élevage des veaux et l'augmentation du nombre d'animaux sauvages suivant la période de reproduction. Aucune corrélation n'a été observée entre le niveau de *Cryptosporidium* et les périodes pluvieuses ou l'épandage des déjections animales. Le parasite a également été fréquemment détecté dans les eaux d'une mare où il n'y avait pas de bétail montrant que les animaux sauvages contribuent par eux seuls à la présence des *Cryptosporidium* dans les eaux de surface (0,2 oocystes/L).

Les STEC semblent pouvoir survivre et rester infectieux pendant plusieurs semaines dans l'environnement de la ferme (sédiments d'abreuvoir, fèces ou fumier sur le sol...). Des contaminations d'eau de surface, d'eau profonde et d'eau de réseau de distribution par *E. coli* O157:H7 ont été décrites lors d'épidémies.(AFSSA 2003c)

Dans sa thèse, Vansteelant (2004) a analysé le sol de prairies permanentes normalement exploitées par les agriculteurs et situées entre 850 et 900 m d'altitude. Ces prairies n'avaient jamais reçu de boues d'épuration et n'avaient pas reçu d'amendements organiques depuis au moins 6 mois. Le **bruit de fond parasitaire** dans ces zones témoins s'est révélé aussi important que celui des zones épandues avec des boues liquides ou pâteuses. L'auteur explique que les œufs de parasites présents dans ces zones témoins sont vraisemblablement issus d'anciens épandages organiques sur les prairies pouvant s'expliquer, soit par la grande persistance des œufs de parasites dans l'environnement même lorsqu'ils peuvent avoir perdu leur viabilité, soit les trop faibles concentrations d'œufs découlant des conditions d'épandage choisies dans le protocole d'étude.

Des modèles de transport des pathogènes provenant de sols agricoles épandus avec des déchets animaux sont à l'étude, en particulier à la suite d'un épisode pluvieux ou orageux (Tyrrel et Quinton 2003). Ils sont basés sur des modèles d'érosion des sols mais nécessitent encore une amélioration des connaissances en ce qui concerne la dynamique microbienne de transport, en particulier les interactions initiales entre les pathogènes et le sol amendé ainsi que lors du transport et du dépôt.

### 1.5.2. AUTRES SOURCES DE PATHOGENES

Les rongeurs et les oiseaux (et plus particulièrement les mouettes (Murray 1991)) jouent un rôle important dans la transmission des **salmonelles** dans l'environnement. Le rôle des animaux sauvages dans la dissémination de la

salmonellose aux animaux domestiques et à l'homme a été étudié mais il reste mal connu. Les animaux de compagnie (chat et chien) sont des sources potentielles d'infection par salmonelles.

Les ***Clostridium sp.*** sont considérées comme spécifiquement d'origine tellurique et les ***Aeromonas sp.*** d'origine hydrique (Leclerc et Mossel 1989).

***L. monocytogenes*** est un micro-organisme ubiquitaire dans la nature et dans les fécès humains et animaux. Il est fréquemment retrouvé à la surface du sol mais plus rarement dans des prélèvements effectués à 10 cm de profondeur suggérant l'importance de la rhizosphère dans la survie de *L. monocytogenes*. Une étude récente citée par Garrec (2003) a mesuré la présence de *L. monocytogenes* dans des terrains agricoles du Canada à des concentrations de 4 à 90 NPP/g. *L. monocytogenes* est retrouvé sur des végétaux prélevés dans des champs cultivés. Une expérience en laboratoire sur la contamination des parties aériennes et racinaires de radis et carottes cultivés sur des sols artificiellement contaminés n'a pas permis de détecter *L. monocytogenes* sur les carottes qui secrèteraient des substances inhibitrices sur la croissance bactérienne et fongique (d'après Garrec 2003). *L. monocytogenes* peut contaminer des ensilages dans de mauvaises conditions de fermentation. Les mammifères sauvages et les oiseaux sont des réservoirs de *L. monocytogenes*.

***Yersinia enterocolitica*** a été retrouvée dans la viande (porc, bœuf, agneau...), huître, poisson et lait cru. Le réservoir principal est constitué par l'eau (Burton et Turner 2003).

Les rongeurs et les oiseaux sont d'importants réservoirs de ***Cryptosporidium sp.*** (Burton et Turner 2003) et représenteraient 1/5<sup>ème</sup> des oocystes retrouvés dans les eaux de drainage agricole. Hooda (2000) cite une étude sur la contamination des eaux de surface aux Etats-Unis (Rose, 1989) qui a montré que *Cryptosporidium* est détecté dans environ 75% des lacs, ruisseaux et rivières examinés.

***Giardia sp.*** est associée à la contamination d'eaux de surfaces par les animaux sauvages. Le réservoir de *G. duodenalis* est représenté par une large variété d'animaux sauvages et domestiques ainsi que par l'homme. Les cystes de *Giardia* sont courants dans les eaux de surface (Bicudo et Goyal 2003).

### 1.5.3. SYNTHÈSE

Dans les zones agricole, les autres sources environnementales importantes de pathogènes autres que les boues d'épuration sont constitués essentiellement par les effluents d'élevage, les animaux sauvages et les oiseaux qui constituent un bruit de fond dans les milieux environnementaux (salmonelles, *Campylobacter spp.*, *Cryptosporidium sp.*....).

A titre d'information et de comparaison ultérieure avec les boues d'épuration urbaine, sur la base d'une quantité annuelle française d'effluents agricoles épandus (bovins et moutons) de  $16,9 \cdot 10^6$  t MS (soit  $154 \cdot 10^6$  t MB : la quantité de déjections animales produite en France annuellement est globalement de 300 millions de tonnes (MB) dont la moitié est émise directement au champ et la moitié est un effluent collecté puis épandu (source : IFEN 2005. *Les déchets de l'agriculture : essai de quantification*. Note de méthode n°15), on obtient un flux annuel de  $1,7 \cdot 10^{16}$ - $1,7 \cdot 10^{18}$  salmonelles (d'après les données de concentration

mesurées par Hydro-M 2004 dans les lisiers et purins de 5 abattoirs français) et  $1,4.10^{17}$ -  $2,7.10^{18}$  oocystes de cryptosporidium (d'après les données de concentration dans les fécès de bovins adultes de l'AFSSA 2002) provenant d'effluents d'élevage et retournant au sol par épandage.

Ramenés à la surface épandue de 45% ( $13,5.10^6$  hectares ) de la SAU ( $30.10^6$  hectares), ces chiffres font état d'un flux annuel par hectare épandu de  $1,2.10^9$  -  $1,2.10^{11}$  salmonelles/ha/an et  $1.10^{10}$  -  $2.10^{11}$  oocystes de cryptosporidium/ha/an.

Certains pathogènes sont naturellement présents dans les milieux environnementaux (*Clostridium spp.*, *Aeromonas spp.*, *Listeria monocytogenes...*).

## 1.6. DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

Le NRC (2002) a répertorié les données épidémiologiques de la littérature concernant les professionnels et les riverains potentiellement exposés aux boues pendant la production et l'épandage.

L'épidémiologie fournit 4 types d'informations :

- Effets sur la santé résultant de l'exposition aux boues (production, épandage, utilisation),
- Identification des voies d'exposition pertinentes telles que l'inhalation ou l'ingestion,
- Détermination de relations dose-réponse,
- Identification des manques de connaissances pour distinguer l'absence de preuves d'effets des preuves de non effet.

Une vingtaine d'études a été sélectionnée et divisée en 6 catégories en fonction des populations exposées : utilisateurs des boues, riverains des sites d'épandage, opérateurs réalisant les épandages, riverains des stations d'épurations, personnel des stations d'épurations, professionnels des installations de compostage.

### 1.6.1. EXPOSITION DIRECTE AUX BOUES

Peu d'études épidémiologiques ont été spécifiquement conduites pour évaluer l'exposition aux boues : Sorber et al. 1984, Thimoty 1984, Dorn et al. 1985, Ottolenghi et Hamparian 1987, Burton 1999, Gregersen et al. 1999, Lewis 2002.

- Sorber et al. (1984) (cité par Forcier 2002) n'a détecté aucun effet significatif sur la santé des personnes vivant à plus de 100 m sous les vents des lieux d'épandage de boues liquides générant des bioaérosols.
- Monpoého (2001) cite 4 cas d'hépatite A rapportés chez des travailleurs agricoles pratiquant l'épandage des boues sur les champs (Thimoty, 1984 « Outbreak of infective hepatitis among sewage sludge spreaders », CDC report). Il est signalé que le non respect des précautions sanitaires minimales (vêtements de protection, lavage des mains...) est largement responsable.
- Dorn et al. 1985 (cité par NRC 2002) ont étudié l'exposition des riverains des sites d'épandage ; il s'agit d'une étude prospective, menée de 1978 à 1982 par l'université de l'Ohio et l'US EPA, qui avait pour objectif d'étudier les risques sanitaires pour les travailleurs agricoles et leur famille en lien avec l'épandage de boues d'épuration urbaines digérées aérobies et anaérobies ; l'étude conclut

que les risques sanitaires pour les populations étudiées n'étaient pas significatifs dans les conditions de l'étude : il n'y avait pas de différence significative entre le risque d'effets respiratoires ou gastro-intestinaux ou divers symptômes comme les maux de tête dans le groupe de familles exposées (47 fermes, 164 personnes) comparé au groupe témoin (46 fermes, 130 personnes).

- Ottolenghi et Hamparian (1987) (cité par Liver, Apedaile et al. 2003) ont étudié l'exposition aux salmonelles et aux shigelles dans la même cohorte que Dorn (1985). Des échantillons de boue ont été collectés dans 4 stations d'épuration et analysés : 21 sérotypes de salmonelles ont été isolés, *Salmonella infantis* étant le plus commun. Des échantillons de sang et de selles de personnes exposées ont également été étudiés : les auteurs concluent que le risque d'infection pour les personnes exposées aux boues n'était pas différent de celui de la population de référence.
- Un programme de surveillance sanitaire a été établi au Royaume-Uni en 1989 a montré que l'épandage de boues stabilisées avec des pratiques adaptées présentait peu de risques pour la santé humaine et animale et pour l'environnement (cité par Forcier 2002).
- Une étude du NIOSH (Burton 1999 cité par NRC 2002) a rapporté des cas de maux de tête, crampes d'estomac et diarrhées de techniciens manipulant les boues de classe B (issues de procédés « PSRP » réduisant significativement les pathogènes, avec des restrictions d'épandage) en lien avec une exposition aux bactéries entériques. Lodor (2001) - cité par NRC 2002- a ensuite réévalué cette étude et a affirmé que les boues auxquelles les travailleurs avaient été exposés ne satisfaisaient pas les seuils réglementaires en vigueur aux USA ( $< 2.10^6$  coliformes fécaux/g MS).
- Gregersen et al. (1999) ont étudié le cas de 5 professionnels d'une station d'épuration industrielle qui ont eu des symptômes de fièvre et d'état grippal en réparant un décanteur destiné à la concentration des boues de la station. Des concentrations élevées en *Legionella pneumophila* (séro groupe 1) ont été mesurées dans la boue et la détection d'anticorps positifs chez les 5 travailleurs a permis de conclure qu'ils avaient développé une fièvre de Pontiac au contact de la boue.

Lewis (2002) a étudié 48 personnes habitant près et sous les vents dominants de 10 sites d'épandage de boues aux Etats-Unis et au Canada. Les informations sur l'exposition et les effets sur la santé ont été renseignés par questionnaire. Un modèle de dispersion dans l'air a été utilisé pour étudier la possibilité que l'exposition aux boues soit à l'origine des effets observés sur la santé. Les résidents qui se plaignaient habituellement d'irritation après une période d'exposition sous les vents des parcelles épandues habitaient à environ 1 km des sites d'épandage. Plusieurs cas d'infection à staphylocoque (peau et appareil respiratoire) ont été rapportés pour des résidents habitant près d'un site recevant de multiples épandages de boues stabilisées à la chaux depuis plusieurs années. L'auteur conclut que les interactions potentielles entre les contaminants chimiques et les faibles concentrations en pathogènes devraient être prises en compte pour évaluer les risques liés à l'épandage des boues : un risque d'infection accru pourrait se produire lorsque des réactions allergiques ou non allergiques aux endotoxines ou autres contaminants chimiques irritent la peau et les voies respiratoires et perturbent la défense naturelle à l'infection. A noter que les bonnes pratiques et le respect des prescriptions réglementaires ne permettent pas, en

France, l'épandage répétitif comme c'est le cas dans cette étude. En France, on pratique au plus un épandage tous les trois ans sur une même parcelle en tenant compte des rotations des cultures.

### 1.6.2. EXPOSITION AUX EAUX USEES

Les études épidémiologiques concernent principalement l'exposition des professionnels en stations d'épuration d'eaux usées domestiques :

- des études d'évaluation de l'exposition des populations résidant à proximité de stations d'épuration ont été analysées par le NRC (Fannin 1980, Camann 1980, Johnson 1980 et Northrop 1980). Elles n'ont pas été jugées suffisantes pour juger l'impact des stations sur la santé des riverains. La thèse de Devaux (1999) n'a pas mis en évidence de différence dans l'état sanitaire des habitants des zones traitées par des eaux usées traitées dans la région de Clermont Ferrand pour fertiliser et irriguer la Limagne.
- des études d'exposition des professionnels en stations d'épuration rapportent à la fois des augmentations (Brugha 1998, Weldon 1997 cités par NRC 2002) et l'absence d'augmentation (Trout 2000 ; Glas et al. 2001 cité par NRC 2002) des infections par hépatite A ; une augmentation des plaintes d'irritations nasales, fatigue et diarrhée qui ont été jugées compatibles avec une exposition aux endotoxines (concentration dans l'air comprise entre 3,8 et 32,2 ng/m<sup>3</sup>) (Rylander 1999 cité par NRC 2002) ; une augmentation de la prévalence de gastro-entérites (Khuder, 1998 ; Sadik et al. 1998 cité par NRC 2002), la survenue confirmée de cas de fièvre de Pontiac (Gregersen 1999) ; l'absence de différence dans le taux de maladie, l'isolation de virus ou de bactéries (Clark, 1984 cité par NRC 2002) ; l'augmentation des taux d'infection aux protozoaires chez des égoutiers : portage intestinal de zooparasites de 11,8 % , quatre parasites identifiés : *Trichiurus sp.*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli* et *Endolimax nanus* (Schlosser 1999) ; l'augmentation des cas rapportés de problèmes de peau, diarrhée et symptômes gastro-intestinaux (Lundholm 1983 et Rylander 1999 cités par NRC 2002) : l'exposition aux endotoxines est mis en cause.
- D'autres agents biologiques ont été mis en cause lors d'enquêtes épidémiologiques en STEP : *Adénovirus* et virus *parainfluenza* (INRS 1997) ; virus de l'hépatite C (Brautbar 1999) ; entérovirus (Clark et al. 1980 cité dans INRS 1990), *Aspergillus fumigatus* (Clark, 1984).
- En France, 2 enquêtes en médecine du travail ont eu lieu (INRS 1990; INRS 1996). Dans la première, 700 salariés travaillant dans 42 stations d'épuration ont été étudiés. Les pathologies rapportées concernent des mycoses du thorax, des cas de fièvres typhoïdes, des aspergilloses pulmonaires, des syndromes pseudo-grippaux (étiologie vraisemblablement virale), des cas de leptospirose. Les auteurs concluent qu'il n'y a pas émergence d'un problème infectieux particulier et que les pathologies sont peu spécifiques. Dans la seconde étude, 709 salariés ont été étudiés. L'examen des selles a révélé, en général, des germes non ou peu spécifiques. Mais des germes pathogènes ont également été mis en évidence : *Trichuris trichuria*, oxyure, *Entamoeba histolytica*. Les auteurs concluent que les pathologies de type infectieux les plus souvent recensées sont bénignes, surtout digestives, ORL et respiratoires.
- La thèse de Devaux (1999) n'a pas mis en évidence de différence dans l'état sanitaire des travailleurs agricoles des zones amendées par des eaux usées traitées dans la région de Clermont Ferrand pour fertiliser et irriguer la Limagne ;

- une étude de morbidité transversale par questionnaire a été menée par l'INRS en 2002-2003 chez les égoutiers de la ville de Paris (INRS/EE EGT, 2004) pour explorer les symptômes respiratoires, ORL, digestifs, cutanés et musculo-squelettiques de cette population. Des mesures de l'exposition aux agents biologiques ont aussi été réalisées (bactéries cultivables, moisissures et endotoxines). Les résultats de mesure sont très variables d'une campagne à l'autre et suivant le poste de travail étudié : les concentrations sont comprises entre 100 et 4 log UFC/m<sup>3</sup>. Les bactéries et moisissures identifiées appartiennent à des espèces très diverses. Les bactéries appartiennent à des espèces banales de l'air (*Bacillus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*), des espèces représentatives des milieux humides (*Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.*) et des espèces caractéristiques d'une contamination par des matières fécales (*Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.* et *Streptococcus D*). Les moisissures identifiées appartiennent aux genres fréquemment retrouvés dans les bioaérosols (dont *Aspergillus fumigatus* et *A. niger*). La recherche d'endotoxines (faible nombre d'échantillons analysés) fait état de concentrations peu élevées (entre 9 et 29 EU/m<sup>3</sup>). Des mucorales (*Absidia*, *Mucor*, *Cunninghamella*) et des levures (*Rhodotorula sp.*, *Trichosporon sp.*) ont été mis en évidence dans l'air. Des actinomycètes ont également été observés pour les activités de curage en petites lignes et de collecte.

### 1.6.3. EXPOSITION AU COMPOST DE BOUES

Les études en lien avec le compostage de boues sont limitées (Deloraine 2002) : un travail ancien sur une station de compostage mixte de boues et de copeaux de bois (Clark 1984), une étude sur une usine expérimentale de compostage d'ordures ménagères biodégradables et de boues (Millner, 1994).

Il n'existe pas à l'heure actuelle d'études épidémiologiques spécifiquement en lien avec le compostage de boues d'épuration.

### 1.6.4. LES EPIDEMIES D'ORIGINE HYDRIQUE EN FRANCE

Les épidémies hydriques rapportées en France et gérées par l'InVS font l'objet d'investigations rétrospectives de manière récente (on compte environ 8 investigations depuis 1998 dont 5 ont fait l'objet d'un rapport public). La qualité des informations recueillies ne permet pas systématiquement d'imputer indiscutablement l'origine de la contamination liée à l'ingestion d'eau contaminée à une cause précise.

Les épidémies de gastro-entérites à *Cryptosporidium sp.* liée à l'eau (AFSSA 2002) en France sont celles de Sète (34) en 1998 (150 enfants malades, point de captage contaminé par une rivière en crue) et de Dracy-le-Fort (71) en 2001 (480 cas, contamination du réseau de distribution) (InVS 2003). Dans le cas de Dracy-le-Fort, l'origine vraisemblable de la contamination est une interconnexion non protégée entre la presse à boues de la STEP et le réseau AEP.

Une épidémie de gastro-entérites à *Norovirus* a eu lieu en Isère en novembre 2002 (InVS 2004) : environ 2100 cas. La contamination du point de captage par des eaux parasitées provenait de la rivière voisine suite à l'inondation du périmètre de protection immédiat. Un dysfonctionnement de la station d'épuration urbaine en amont est probablement à l'origine de la contamination. On notera que les stations d'épuration n'ont pas pour but de désinfecter l'eau avant rejet au

milieu naturel (sauf en zone conchylicole et de baignade, ou en cas de réutilisation des eaux traitées...). La charge bactérienne des eaux traitées reste donc très importante puisque la réduction en pathogènes entre eau brute et eau traitée est au mieux de 2 unités logarithmiques.

Des épidémies de gastro-entérites à germes multiples ont été investiguées à Gourdon (46) en 2000 (InVS 2001) (2600 cas ; *rotavirus* retrouvé dans les eaux du réseau d'adduction, *Rotavirus*, *Calicivirus* et *Campylobacter coli* retrouvés dans les selles des patients ; origine de la contamination non identifiée, plusieurs hypothèses émises) et de Divonne-les Bains (01) en 2003 (plus de 700 cas ; *rotavirus*, *calicivirus* entérovirus, protozoaires et shigelles retrouvés dans les selles des patients ; contamination par retour d'eau usée dans le réseau d'adduction provenant du clarificateur de la station d'épuration).

### 1.6.5. SYNTHÈSE

Il existe peu d'études épidémiologiques en lien avec l'épandage des boues. Certaines n'ont détecté aucun effet significatif sur la santé des personnes exposées aux boues (Sorber et al. 1984 ; Dorn 1985 ; Ottolenghi et Hamparian 1987), d'autres ont rapporté des infections virales (Thimoty 1984 cité par Monpoého 2001), des symptômes gastro-intestinaux (Burton 1999), des infections à staphylocoques (Lewis 2002).

Les études épidémiologiques en stations d'épuration apportent des preuves limitées et parfois contradictoires d'infections et symptômes d'irritations et d'allergies. Les agents pathogènes mis en cause sont les endotoxines, les parasites, les virus, les champignons. Une seule étude (Gregersen 1999) a observé des cas de fièvre de Pontiac résultant d'une exposition aux légionelles liée à une station d'épuration industrielle.

Il n'existe pas à l'heure actuelle d'études épidémiologiques spécifiquement en lien avec le compostage de boues d'épuration.

Les quelques investigations d'épidémies d'origine hydrique en France résultant de l'ingestion d'eau contaminée (le plus souvent lors d'un incident de traitement de l'eau ou d'exploitation de la station) ont mis en cause de façon spécifique *Cryptosporidium sp.* , *Norovirus* et *Rotavirus* et de façon moins claire (présence chez les « cas » mais pas dans l'eau) *Calicivirus*, *Campylobacter coli*, entérovirus, protozoaires et shigelles.

### 1.6.6. ANALYSE

Il nous a paru ici intéressant de présenter la conclusion du National Research Council américain saisi par l'agence de l'environnement américaine (US EPA) pour évaluer la mise en place de la réglementation des boues et notamment son fondement scientifique et sanitaire qui s'est traduit par une analyse des informations existantes et des recommandations.

#### 1.6.6.1. CONCLUSIONS DU NRC (2002)

Les études épidémiologiques de la littérature ne fournissent pas de preuves pour ou contre la mise en cause des boues en tant que vecteur d'infections virales. De nouvelles recherches, comme des études environnementales, devraient être menées pour compléter l'état des connaissances.

Pour les infections bactériennes et à protozoaires, le NRC juge qu'il n'y a ni preuve d'infection ni preuve d'absence d'infection. La présence d'organismes viables dans les boues et la mise en évidence du potentiel d'exposition pendant des périodes spécifiques de la production ou de l'épandage des boues renforceraient la plausibilité biologique d'une relation causale.

Enfin, le rôle des endotoxines dans l'apparition de symptômes d'irritation et d'allergies, renforcé par l'observation de leur présence dans les boues, est cependant mis en défaut par le manque de preuves indiquant une relation entre le niveau d'exposition et les effets sur la santé.

Globalement, bien qu'il y ait des preuves d'infection de professionnels de stations d'épuration, le NRC juge que la plausibilité d'un risque d'infection d'origine biologique des professionnels et des résidents exposés aux boues demeure peu claire. Il y a une absence relative de preuves documentant les cas d'infection et des preuves limitées renseignant l'absence d'infections.

Le NRC conclut que les études portant sur l'exposition des professionnels travaillant en stations d'épuration ne devraient pas être utilisées comme substituts d'études d'exposition aux boues. Les raisons avancées sont les suivantes :

- Les connaissances concernant les travailleurs des stations d'épuration sont peu nombreuses et contradictoires,
- Les caractéristiques d'exposition sont assez différentes entre l'épuration des eaux usées et l'épandage de boues,
- Les voies d'exposition sont différentes entre les populations exposées aux boues non traitées et celles exposées aux boues épandues,
- Les populations exposées aux boues épandues ont des sensibilités différentes des travailleurs.

Le NRC estime que des études supplémentaires doivent être menées.

#### 1.6.6.2. POSITION DES EXPERTS DU GROUPE DE TRAVAIL

L'examen de l'ensemble des données épidémiologiques disponibles dans la littérature a mené le groupe à 3 conclusions principales :

1/ En France, l'eau potable est un milieu très surveillé et les événements sanitaires qui peuvent y être reliés sont largement étudiés. Dans cette surveillance, les épandages de boues n'ont jamais été mis en cause lors de la recherche de l'étiologie d'une épidémie liée à l'ingestion d'eau potable.

2/ De manière plus générale, aucun événement sanitaire lié aux boues, épandues dans le strict cadre de la réglementation française, n'a jamais été rapporté.

3/ Des études montrant des effets (faibles et/ou jugés bénins par les auteurs) liés à l'exposition des boues ou des eaux usées (proche dans le type de contamination) sont rares, divergentes et liées aux milieux professionnels.

**L'ensemble de ces observations conduit le groupe de travail à émettre l'avis que le risque biologique des épandages de boues d'épuration pour la population générale est faible.**

## 1.7. EFFETS SUR LA SANTE

Les effets potentiels sur la santé des agents pathogènes mettent en jeu 4 types de mécanismes d'action :

- un mécanisme infectieux,
- un mécanisme immuno-allergique,
- un mécanisme irritatif et cytotoxique ou toxique,
- un mécanisme mutagène/cancérogène.

Pour plus de détail sur ces mécanismes et sur les effets des principaux agents pathogènes, on pourra se référer au rapport du CAREPS (2002) et du HSE (2002).

### 1.7.1. INFECTION

(définition de la Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer mise à jour le 24/02/2003)

C'est la pénétration dans un organisme d'un agent étranger (bactérie, virus, champignon, parasite) capable de s'y multiplier. L'infection peut s'accompagner de manifestations cliniques ou non.

Elle est le produit d'un déséquilibre entre le micro-organisme et les défenses de l'individu. D'ordinaire, un individu normal présente une infection après rencontre avec un agent virulent.

Le premier contact avec un agent infectieux, ou primo-infection, peut être inapparent et l'agent, en particulier un virus, peut rester présent dans l'organisme sans provoquer de maladie, à l'état latent. On rencontre aussi des infections opportunistes où un germe peu virulent, ou jusque là latent, profite d'une diminution des défenses de l'organisme pour se multiplier et entraîner une infection locale, comme un abcès, ou générale, comme une septicémie.

L'évolution d'une infection dépend du rapport des forces en présence : la virulence du microbe, la faiblesse des défenses de l'organisme.

Elle est traitée par des antibiotiques ou d'autres médicaments anti-infectieux dirigés contre des virus, des champignons ou des parasites.

#### Cas particulier des infections liées à certains virus (Madeline, 2003a)

Pour les virus associés aux entéroviroses (*Enterovirus* et *Poliovirus*), les infections présentent une grande diversité clinique : il peut s'agir de symptômes spécifiques (ex : poliomyélite) ou non (ex : encéphalites, méningites, paralysies), à tropisme digestif (gastro-entérites) ou respiratoire (infection respiratoire haute) ; des formes chroniques, en particulier cardiaques (pérorcardites, cardomyopathies, myocardites) sont rapportées ; le plus souvent, les infections sont totalement asymptomatiques.

Les *Rotavirus*, *Norovirus*, *Astrovirus*, *Adénovirus* sont associés à des gastro-entérites.

#### Cas particulier des infections liées aux champignons

L'inhalation de spores provoque des mycoses systémiques ; la plupart des infections sont opportunistes, c'est-à-dire que la population à risque porte principalement sur les personnes immuno-déprimées (Deloraine 2002).

Pour *Aspergillus*, dont la présence est largement majoritaire dans les ambiances des plate-formes de compostage et dans les boues déshydratées (INRS 1997), il s'agit :

- d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique chez les sujets sains pour qui la pathogénicité d'*Aspergillus* est habituellement faible ;
- d'aspergilloses invasives qui sont souvent mortelles chez les sujets immuno-déprimés des pays développés.

*fumigatus* est responsable d'environ 90 % des infections humaines liées aux champignons (Deloraine 2002).

### **1.7.2. EFFETS NON INFECTIEUX**

Plusieurs études rapportent des cas d'allergies et d'irritations parmi les travailleurs des stations d'épuration (Rylander 1999 d'après NRC 2002) et les professionnels des installations de compostage traitant soit des biodéchets (Bunger 2000 d'après NRC 2002) soit des boues urbaines (Clark 1984 d'après NRC 2002).

#### **1.7.2.1. REACTIONS IMMUNOALLERGIQUES**

Ces effets sont le résultat de phénomènes : de stimulation du système immunitaire (dans certains cas augmentation des mécanismes de défense), de dépression immunitaire (action observée de certaines mycotoxines) ou d'hypersensibilité (réponse immunitaire exacerbée ou inappropriée qui peut être occasionnée par la plupart des microorganismes).

Les actinomycètes sont connus pour agir par des mécanismes immunoallergiques responsables de bronchioalvéolite allergique extrinsèque (BAAE). Le risque est bien décrit pour les travailleurs en champignonnières, pour les fermiers autres professions en contact avec des poussières organiques.

*Aspergillus* est un allergène pulmonaire souvent responsable de BAAE et d'asthme professionnel. Les autres atteintes aspergillaires de type allergique sont les sinusites et l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (Deloraine 2002).

Les endotoxines ont un très faible pouvoir antigénique et une action non ou peu spécifique. Selon la quantité inhalée, elles ont un effet bénéfique à faible concentration et néfaste à forte concentration (Deloraine 2002).

#### **1.7.2.2. IRRITATIONS ET EFFETS TOXIQUES**

Les mécanismes physiopathologiques sous tendus sont souvent complexes et mal connus.

Les endotoxines et les mycotoxines sont bien connues pour leur rôle irritant direct sur les voies respiratoires (Perdrix, Madon et al. 1997).

Les bioaérosols sont capables d'induire des réactions toxiques sévères comme le syndrome toxique de la poussières organique (ODTS).

Les endotoxines sont associées à ces symptômes toxiques ainsi qu'à des détériorations aiguës et chroniques des fonctions pulmonaires (Bunger 2000).

De nombreuses mycotoxines sont cytotoxiques selon des mécanismes complexes et mal inventoriés.

### 1.7.2.3. EFFETS MUTAGENES/CANCEROGENES

Le rôle de certains agents biologiques dans l'apparition de certains cancers a été mis en évidence grâce à des études cliniques et expérimentales (plus rarement par des études épidémiologiques). Ainsi, le virus de l'hépatite B ou C est mis en cause dans la genèse du cancer du foie.

Plusieurs mycotoxines sont classées cancérigènes par le CIRC.

## 1.8. SYNTHÈSE GÉNÉRALE SUR L'ÉTAT DES CONNAISSANCES ACTUELLES

### 1.8.1. CONSTATS

- ✓ Depuis 30 ans que l'on pratique l'épandage agricole de boues d'épuration des eaux usées en France, l'épandage des boues n'a jamais été mis en cause lors des enquêtes sur des épidémies d'origine environnementale, quelque soit le vecteur de la contamination (eau, alimentation...). De manière plus particulière, le domaine de l'eau potable est fortement investigué : aucune étude de cas n'a impliqué un épandage de boues dans la contamination de la ressource en eau. Des études en lien avec l'épuration des eaux ont été faites non sur la matrice boue mais à la station d'épuration et les populations concernées étaient les travailleurs de la station d'épuration. Les auteurs de ces études jugent les risques faibles et/ou bénins. L'ensemble de ces observations conduit le groupe de travail à émettre l'avis que le risque biologique des épandages de boues d'épuration pour la population générale est faible.
- ✓ Depuis une dizaine d'années, des études françaises ont permis de détecter et quantifier la présence de certains agents pathogènes (œufs d'helminthes, kystes de *Giardia spp.*, salmonelles, entérovirus, VHA, *E. coli* vérotoxiques, *Listeria spp.*, *Campylobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia spp.* et *Staphylococcus spp.*) dans les boues d'épuration. *Ascaris sp.* a pratiquement disparu chez l'homme et le porc en France métropolitaine du fait des règles d'hygiène et de l'élevage industriel ; *Taenia saginata* représente probablement le principal problème parasitaire résiduel en santé humaine et animale puisqu'il est pratiquement retrouvé dans toutes les boues analysées sous les climats tempérés.
- ✓ La contamination des boues urbaines non traitées est quasi systématique. Les données de la littérature sont hétérogènes et très variables suivant les eaux résiduaires et les boues étudiées. Certains agents sont peu étudiés (*Cryptosporidium sp.*, autres protozoaires comme *Balantidium sp.*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia spp.*, *Vibrio spp.*, *E. coli* producteurs de shiga-toxines...) ou pas étudiés dans les boues (Adénovirus, Calicivirus, Astrovirus, mycobactéries, microsporidies...). Seules 2 études sur la contamination des boues non traitées d'abattoirs français ont été trouvées dans la littérature. En ce qui concerne les boues de laiteries, les agents pathogènes ne sont pas recherchés en routine sauf dans les laits et leurs produits crus qui font l'objet d'auto-contrôles (*Listeria spp.*, staphylocoques) suivant les régions.

Dans le contexte réglementaire actuel, les agents pathogènes ne sont pas couramment recherchés dans les boues (sauf pour les boues hygiénisées) d'où une absence de méthodes standardisées (à l'exception des helminthes, des salmonelles et bientôt des entérovirus) qui rendrait opérationnelle leur

analyse en routine dans le cadre des plans d'épandage. Les méthodes standardisées pour étudier la viabilité des kystes de protozoaires ne sont pas non plus « réellement » disponibles. Le projet européen Horizontal est destiné à compléter les outils d'échantillonnage et d'analyse disponibles actuellement pour la matrice boue.

L'inactivation des agents pathogènes par les différents types de traitement appliqués aux boues (pré-traitement avant digestion, stabilisation, déshydratation, stockage, post-traitement) n'est pas systématique et dépend d'une part de la contamination initiale des boues et d'autre part de la mise en œuvre du procédé, c'est à dire de l'efficacité du couple température/durée appliqué. On possède quelques données sur la contamination des boues urbaines traitées (Entérovirus, *Listeria sp.*, kystes de *Giardia*, œufs d'helminthes, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter spp.*, *Cryptosporidium sp.*) mais pas sur celles des boues d'abattoirs autonomes ou des boues de laiteries.

En général, les bactéries et les virus sont sensibles aux traitements et on les retrouve préférentiellement dans les boues ayant subi un traitement minimal (boues liquides). Les kystes de *Giardia* sont peu viables quel que soit le traitement. Au vu du peu d'études disponibles, les oocystes de *Cryptosporidium* semblent également perdre leur viabilité sous l'influence de la température mais de façon moins prononcée que les *Giardia*. Les œufs d'helminthes sont assez résistants et on peut les retrouver dans des boues compostées ou des boues chaulées si le traitement a été mal conduit.

Globalement, les traitements avancés pour la réduction du risque pathogène recommandés par la communauté européenne en 2001 sont : le compostage, le séchage thermique, la digestion thermophile, le traitement thermique suivi d'une digestion et le chaulage.

- ✓ Le stockage a un impact non négligeable sur l'inactivation des agents pathogènes. Les œufs d'helminthes sont plus résistants et susceptibles d'être retrouvés à l'issue de la période de stockage suivant ses conditions de réalisation.
- ✓ Comme pour la manipulation des composts, les opérations de reprise des tas de boues sèches et pulvérulentes peuvent être à l'origine d'émissions de poussières mais ces dernières représentent un risque peu significatif pour les riverains compte-tenu de la brièveté de l'opération et de sa rareté (1 fois tous les 3 ans pour une parcelle). En outre, dans le cas des boues séchées, il y a eu hygiénisation.
- ✓ L'eau constitue la voie principale de dissémination des agents pathogènes dans l'environnement par ruissellement et lessivage vers les eaux de surface. Cependant, les possibilités de contamination de l'eau sont réduites sur les bandes enherbées et par le respect des prescriptions réglementaires (distances d'épandage).

Compte tenu des délais réglementaires d'épandage avant culture, il est peu probable de retrouver des agents pathogènes sur des végétaux qui ont poussé sur des sols épandus.

Le rôle des animaux pâturant sur des parcelles épandues dans la transmission à l'homme des pathogènes provenant des boues n'est actuellement pas

démonstré. Le respect des délais réglementaires de mise en pâture des animaux garantit une réduction des possibilités de contamination des animaux.

- ✓ De nombreux facteurs influencent la survie des agents pathogènes dans l'environnement. La plupart du temps, on observe une décroissance forte des pathogènes au bout de 2 mois du fait des conditions défavorables à leur survie (dessiccation, température, compétition naturelle de l'écologie microbienne) dans les milieux environnementaux ; la recontamination des sols par les salmonelles est limitée. Les agents biologiques de petite taille (virus, bactéries et certains protozoaires) peuvent se retrouver dans les bioaérosols formés par des boues liquides épandues avec des buses d'aspersion en condition ventée. L'air constitue cependant un milieu très défavorable à leur survie (rayonnement solaire, dessiccation...).
- ✓ Dans les zones agricoles, certains agents pathogènes sont déjà présents dans l'environnement au moment de l'épandage des boues (*Cryptosporidium parvum*, *L. monocytogenes*, campylobacters). Ils signalent la présence d'exploitations d'élevage et d'animaux domestiques ou sauvages.
- ✓ Les pratiques de cultures forestières et revégétalisation ne sont pas aujourd'hui encadrées réglementairement, mais la réglementation est en préparation. Les données scientifiques de l'étude "Agronomie et impact environnemental" sont en cours d'acquisition d'une part pour les conditions forestières (restitution prévue en 2006 qui pourrait précéder la parution d'un arrêté comme prévu dans le décret 97-1133) et d'autre part, pour la "reconstitution de sol" suivie d'une revégétalisation (guide d'encadrement expérimental en cours de finalisation). L'évaluation des risques sanitaires pourrait donc être intégrée à la réflexion en cours.

### 1.8.2. IDENTIFICATION DES BESOINS DE CONNAISSANCE

Les principaux points mis en évidence dans cette étude qui nécessitent l'acquisition de données pour compléter les connaissances actuelles sont les suivants :

- détermination des espèces des agents biologiques déjà recherchés dans les boues urbaines (salmonelle, *Campylobacter spp.*, *Cryptosporidium spp.* etc...) : la connaissance plus fine permettrait d'identifier l'origine humaine, animale, environnementale des pathogènes;
- présence, quantification et virulence d'agents biologiques peu étudiés dans les boues urbaines non traitées et traitées (endotoxines, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio spp.*, virus -Rotavirus, Calicivirus, Adénovirus...-, *E. coli* pathogènes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cryptosporidium spp.*, mycobactéries, microsporidies...);
- présence et quantification de pathogènes dans les boues industrielles destinées à être épandues : *Pseudomonas spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp.*, salmonelles ;
- présence et écologie des légionelles, méthodes de détection dans les boues ;
- constitution d'une base de données sur la survie et le transport des microorganismes (et notamment des virus) dans l'environnement (sol et végétaux en fonction des caractéristiques du sol et de l'environnement) ;

- données d'exposition aux bioaérosols et composts de boue lors des processus d'épandage.

## 2. EVALUATION DES RISQUES SANITAIRES

---

La démarche proposée par l'Académie des Sciences américaine au début des années 1980 a pour objectif d'évaluer les risques sanitaires liés à une exposition environnementale à un agent chimique, biologique ou physique. Elle a été très développée pour évaluer les risques chimiques et radiologiques.

L'évaluation des risques biologiques a été testée au début des années 1990 pour l'épandage des boues (US EPA 1991 et 1992) et de manière plus récente pour évaluer les risques alimentaires (WHO/FAO 2002 et 2004), les risques liés au compostage (Gale 2002) et aux boues (Gerba 2002 ; UK WIR 2003 ; WERF 2003, Gale 2005 ; Brooks 2005).

Il est important de souligner que l'évaluation des risques sanitaires liés aux agents biologiques est entourée de nombreuses incertitudes résultant notamment de l'utilisation de paramètres ou relations biologiques peu connus. Cependant, le groupe de travail de cette étude a choisi de mener l'évaluation quantitative à son terme sur un cas pratique **de façon à mettre en évidence les points critiques d'une telle démarche et les besoins de recherche qui permettraient de réduire les manques de connaissances**. Ces lacunes ont conduit le groupe de travail à conclure qu'une évaluation quantitative des risques dans le cadre de la demande d'autorisation des plans d'épandages n'était pas pertinente en l'état actuel des connaissances. Ce chapitre (et l'annexe 2 du présent document) expose les éléments qui ont étayé cette conclusion.

La démarche a été conduite pour évaluer le risque attribuable à l'épandage des boues dans le cadre des études sanitaires des plans d'épandage soumis à autorisation. La relativisation des risques liés aux boues par une approche comparative prenant en compte d'autres types d'exposition (alimentaires, hygiène domestique...) et pratiques (épandage des effluents d'élevage) n'a pas été considérée en premier niveau d'approche dans le cadre de ce travail bien que, dans le cas des effluents agricoles, les flux annuels concernés soient très largement supérieurs (300 millions de tonnes (M t) brutes d'effluents contre environ 5 M t de boues brutes urbaines et 2 M t de boues brutes industrielles).

### 2.1. PRESENTATION DE LA METHODE D'EVALUATION DES RISQUES MICROBIOLOGIQUES

L'Institut International des Sciences de la vie (ILSI) a proposé en 2000 un cadre méthodologique pour évaluer les risques microbiologiques (ILSI 2000).

Il comprend 3 étapes (figure 1) :

- Formulation du problème aboutissant à l'élaboration d'un schéma conceptuel décrivant les interactions pathogène/milieu/population dans un scénario d'exposition,
- Analyse des données disponibles concernant la caractérisation de l'exposition (caractérisation du pathogène, occurrence du pathogène, analyse de l'exposition) et la caractérisation des effets sur la santé (caractérisation de l'hôte, évaluation des effets sur la santé et évaluation des relations dose-réponse),
- Caractérisation des risques par une estimation probabiliste ou qualitative.

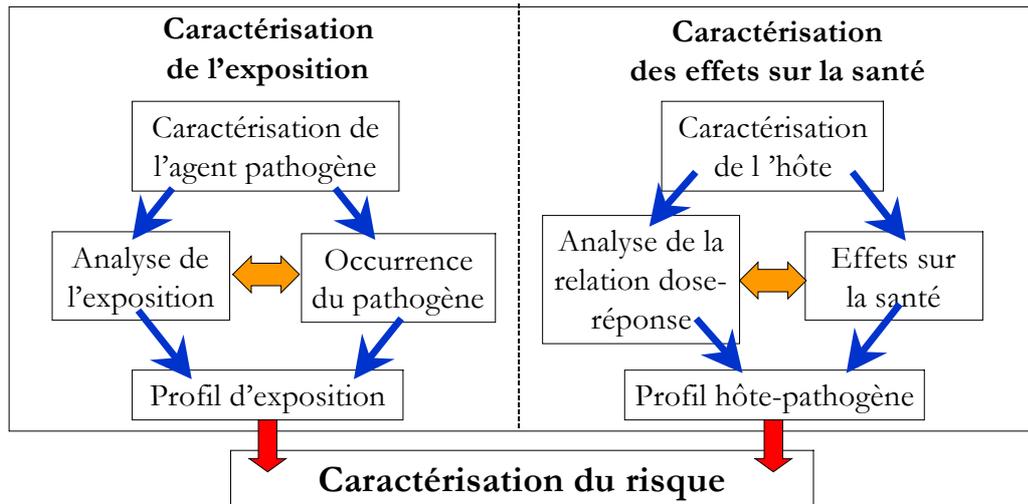


Figure 1 : méthode d'évaluation des risques pathogènes d'après ILSI (2000).

Au niveau national, la seule méthodologie disponible est celle élaborée pour les substances chimiques en 4 étapes (identification des dangers, évaluation de la relation dose-effet, évaluation de l'exposition et caractérisation des risques) qui peut se traduire pour les agents biologiques par :

- description des effets sur la santé résultant du contact avec les agents pathogènes identifiés comme prioritaires;
- estimation des relations dose/réponse pour définir une relation entre le niveau d'exposition aux agents biologiques et la probabilité d'occurrence de développer une infection ;
- évaluation des expositions en fonction des voies pertinentes à déterminer ;
- caractérisation du risque en calculant la probabilité pour un individu de développer une infection suite à une exposition à une quantité de germes donnée.

Elle s'appuie sur les principes de transparence, de prudence, de proportionnalité et de spécificité :

- le principe de transparence garantit la lisibilité de l'étude, en particulier en permettant de discuter le raisonnement suivi, grâce à l'explication, la justification et la cohérence des choix effectués par l'évaluateur de risque ;
- le principe de prudence scientifique préconise le recours à des hypothèses raisonnablement majorantes, définies au cas par cas, lorsqu'il y a absence de données pertinentes<sup>2</sup> ;
- le principe de proportionnalité veille à la cohérence entre le degré d'approfondissement de l'étude et l'importance de la contamination et de son incidence prévisible ;

<sup>2</sup> L'évaluation des risques s'appuie sur le principe de prudence scientifique, tandis que le principe de précaution (« selon lequel l'absence de certitudes, compte tenu des connaissances scientifiques et techniques du moment, ne doit pas retarder l'adoption de mesures visant à prévenir un risque de dommages graves et irréversibles à l'environnement à un coût économiquement acceptable », loi n°95-101 du 2 février 1995 publiée dans le journal officiel du 3 février 1995) s'applique à la gestion des risques.

- le principe de spécificité assure la pertinence de l'étude par rapport aux usages et aux caractéristiques de l'activité étudiée (ici la pratique d'épandage des boues).

## **2.2. APPLICATION AUX EPANDAGES DES BOUES D'EPURATION EN FRANCE**

On trouvera ci-dessous les principaux éléments et résultats des étapes du travail et notamment, les données bibliographiques, les hypothèses choisies et, leurs limites. L'exhaustivité des informations est rassemblée dans l'annexe B.

Les étapes du travail ainsi résumées sont :

- le choix des pathogènes à prendre en compte,
- la caractérisation du danger (estimation de la relation dose-réponse),
- l'évaluation des expositions,
- la caractérisation des risques comprenant l'analyse des incertitudes,
- les conclusions tirées du cas pratique.

### **2.2.1. PATHOGENES D'INTERET SANITAIRE**

Dans l'analyse de la bibliographie, la sélection d'agents pathogènes d'intérêt dans le cadre des épandages s'est déjà posée. Ainsi, cette question se pose dans la cas de l'établissement d'une réglementation ou dans le cas de la conduite d'une évaluation des risques sanitaires.

Les pathogènes retenus sont issus des listes présentées dans le chapitre 1 du présent document.

Globalement, le choix des agents pour une évaluation des risques sanitaires repose sur les principes :

- ◆ de pertinence :
  - présence des pathogènes rapportée dans les eaux usées ou dans les boues, Environ 80 agents pathogènes ont été identifiées dans les boues (Dumontet 2001).
  - résistance aux traitements des boues,  
Il n'existe des données sur la résistance aux traitements des boues que pour un nombre limité d'agents pathogènes : Entérovirus, Poliovirus, VHA, salmonelles, *Listeria sp.*, *Campylobacter sp.*, *Escherichia Coli* O157 : H7, *Staphylococcus aureus*, *Giardia sp.* , *Cryptosporidium spp.*, œufs d'helminthes.  
En France, les boues liquides produites par les petites stations d'épuration (souvent soumises à déclaration) ne sont généralement pas traitées (sauf stockage) avant épandage.
  - survie des agents pathogènes dans l'environnement,  
Pour rappel, la survie des agents pathogènes dans l'environnement est très variable en fonction de la nature du sol, de la température, de l'humidité et constitue donc un critère peu discriminant.

- potentiel d'exposition des populations aux boues.

Les opérateurs sont les premiers exposés : contact cutané, inhalation d'aérosols provenant de la dispersion aérienne des boues liquides ou séchées, exposition digestive manuportée directe (contact mains-bouche) ou indirecte (aliments, cigarettes...). Toutefois, en tant que professionnels, il ne sont pas concernés par l'étude d'impact (législation du travail).

Les agriculteurs qui pratiquent l'enfouissement des boues après épandage sur leur parcelle ou le labour ultérieurement sont la deuxième population exposée, principalement par inhalation/ingestion de poussières de sol.

Les populations riveraines des parcelles épandues sont théoriquement très peu exposées si la réglementation est respectée.

- ◆ et faisabilité :

- données de contamination dans les boues représentatives de la réalité française,

On dispose de peu de données françaises de contamination des boues (salmonelles, *Listeria*, *Campylobacter*, entérovirus et VHA...) ce qui limite la robustesse des connaissances et la représentativité nationale des résultats disponibles. L'absence de données de prévalence des contaminations plus précises constitue donc un frein majeur à l'application des valeurs de concentration dans les boues à la démarche de quantification des risques et à l'interprétation des résultats.

Une autre manière indirecte, également entourée d'incertitudes, consiste à utiliser une chaîne d'hypothèses pour estimer une concentration dans les boues à partir des contaminations dans les eaux usées domestiques ou les déjections animales.

- existence d'une relation dose-réponse pour quantifier le risque,

L'évaluation quantitative des risques biologiques à partir de relations dose-réponse est une approche récente qui a surtout été développée pour évaluer les risques alimentaires (WHO/FAO 2002 et 2004) ou via l'eau de boisson (AFSSA 2002).

De ce fait, il existe peu de relations dose-réponse pour la **voie ingestion** (qui ont été construites à partir de résultats d'enquêtes à la suite d'épidémies, d'expériences chez des volontaires humains ou chez l'animal) pour des milieux d'exposition (aliments, eau) toujours différents des boues, d'où des incertitudes qui sont détaillées dans le chapitre 2.2.5).

A l'exception des endotoxines (la valeur de référence de 4,5 ng/m<sup>3</sup> est proposée par Heederick et Douwes 1997) et des Coxsackievirus A21 (une relation est proposée par Haas 1999), il n'existe pas de valeur toxicologique de référence pour évaluer les risques biologiques pour la **voie inhalation** dus aux bioaérosols (ACGIH 2003). En effet, les données disponibles, et notamment les études épidémiologiques, ne permettent pas d'établir clairement des relations dose-réponse pour les bioaérosols. En ce qui concerne les coxsackievirus, n'ayant pu remonter jusqu'à l'étude source (Couch et al. 1965) ni à la méthodologie de construction par Haas, il a été

décidé de ne pas étudier cette voie d'exposition par principe de transparence.

La prise en compte des risques sanitaires par **contact cutané** est actuellement impossible du fait qu'il n'existe pas, en l'état des connaissances, de relations dose-réponse pour cette voie d'exposition.

⇒ **La seule voie d'exposition qui sera étudiée est donc l'ingestion.**

A partir de la liste des agents biologiques d'intérêt sanitaire des boues d'épuration constituée à partir des données de l'ADEME (1999) et des travaux américains (US EPA 1999, NRC 2002) et présentée dans le tableau 4 de l'annexe B, les 2 critères de faisabilité discriminants ont été appliqués :

**1. existence de données quantifiées de l'agent pathogène dans les boues destinées à l'épandage ou à défaut dans les eaux usées,**

Ce critère a été appliqué à partir des données référencées dans l'étude bibliographique (chapitre 1.1.2).

**2. existence d'une relation dose-réponse.**

Ce critère a été appliqué à partir des données des études WERF (2003), UK WIR (2003), des études de l'AFSSA (AFSSA, 2003b ; AFSSA, 2003c; AFSSA, 2002; AFSSA, 2000b) et de compléments de recherche dans la littérature.

⇒ **29 pathogènes répondent à l'un ou l'autre de ces critères.**

⇒ **12 pathogènes répondent aux deux critères.**

La liste des 12 pathogènes a été minutieusement étudiée par le groupe de travail. Il a été décidé que l'évaluation des risques sanitaires liés à l'épandage des boues était pertinente et possible en l'état des connaissances actuelles pour les pathogènes suivants :

- **Entérovirus,**
- ***Salmonella spp.*,**
- ***Escherichia coli O157 :H7,***
- ***Cryptosporidium spp.***

En ce qui concerne l'évaluation des risques sanitaires liés à l'épandage de boues susceptibles d'être contaminées par le **prion** :

- Bien que l'endémie bovine française soit en nette diminution,
- Bien que sa présence ne soit pas avérée dans les boues d'épuration,
- Bien que la réglementation européenne impose un tamisage de 6 mm à tous les effluents d'abattoirs,
- Bien que les pratiques à l'abattoir pour le retrait de MRS se soient améliorées (aspiration moelle avant fente carcasse),

Il a été décidé, en l'état actuel des préoccupations sociales sur le sujet, de retenir l'agent d'origine bovine responsable des ESST (Encéphalopathies Subaiguës Spongiformes Transmissibles), à titre d'information, en appliquant la démarche anglaise d'évaluation des risques sanitaires publiée par Gale en 2001.

⇒ l'évaluation des risques du prion est exposée dans le chapitre 3 de l'annexe B et ne sera pas plus développée ici.

## 2.2.2. CARACTERISATION DU DANGER

### 2.2.2.1. EFFETS SUR LA SANTE

Des fiches descriptives pour chacun des pathogènes sélectionnés sont présentées en annexe A.

#### En résumé :

- Les entérovirus peuvent être responsables de pathologies très variées : méningite, infection respiratoire, myocardite, éruption cutanée, fièvre, diarrhée ;
- Les salmonelles non typhiques sont responsables de salmonelloses à forme digestive (syndrome gastro-entéritique). Les souches responsables sont des sérotypes comme *Salmonella* ser. Typhimurium ou ser. Enteritidis ;
- *E. coli* O157 :H7 est responsable d'affections intestinales caractérisées par des colites hémorragiques accompagnée de crampes et de douleurs abdominales ;
- Le principal symptôme lié à l'infection à *Cryptosporidium spp.* est la diarrhée aqueuse profuse ; l'évolution est sous la dépendance du statut immunitaire.

### 2.2.2.2. RELATIONS DOSE-REPONSE

Pour les agents biologiques infectieux, la relation dose-effet représente le lien entre le niveau d'exposition à l'agent et la probabilité d'occurrence d'infection.

Ces relations ont pendant longtemps été décrites par des valeurs ponctuelles comme la dose minimale infectante (DMI) qui représente le nombre d'agents pathogènes nécessaires pour provoquer une pathologie (elle varie considérablement en fonction de l'agent pathogène, de son état physiologique et celui de la personne exposée).

Plus récemment, des modèles mathématiques ont été proposés (Teunis et al., 1996 ; Haas, 1999) pour représenter l'ensemble de la courbe dose-effet. Ils sont construits à partir de données expérimentales chez l'animal et plus rarement chez des volontaires humains ou à partir de données épidémiologiques.

La prédiction de l'infection ou de la maladie résultant de l'exposition à un agent pathogène dépend de 3 facteurs (pathogène, hôte et environnement) et de leurs interactions qui vont influencer les modèles d'évaluation des risques (Coleman, 1998). Les différences entre agents infectieux sont les plus difficiles à contrôler.

Il existe donc différentes sources de variabilité intrinsèquement liées à une relation dose-réponse. Son utilisation a donc théoriquement une représentativité limitée aux conditions auxquelles elle se rapporte (souche et virulence du pathogène étudié, statut immunitaire et âge de la population, conditions de l'exposition etc...). Par ailleurs, les études disponibles pour établir ces relations demeurent peu nombreuses.

Les relations dose-réponse fournissent la plupart du temps des résultats chez des individus sains en terme d'infection (multiplication de l'agent pathogène chez l'hôte) et non en terme de maladie. Il est donc difficile d'extrapoler les résultats pour les populations plus sensibles. De nouveaux modèles plus complexes (comme celui de la WERF 2003) prennent en compte l'état de santé des individus. Cela implique l'utilisation d'un nombre plus important de paramètres dont la connaissance est souvent très limitée.

Pathogène	Dose Potentiel de croissance dans le milieu d'exposition Potentiel de colonisation du système gastro-intestinal de l'hôte Virulence et pathogénicité et des pathogènes (espèce, sérotype) ...
Hôte	Statut immunitaire Physiologie Bol alimentaire Maladie pré-existante Age ...
Environnement	Conditions de l'exposition Conditions expérimentales Ecosystème du milieu ...

Tableau 18 : facteurs de variabilité du pouvoir pathogène des agents biologiques.

En outre, pour connaître la probabilité d'être malade suite à l'exposition à un agent pathogène, il est nécessaire de connaître le « taux d'attaque » dans la population étudiée qui est souvent variable d'après les expériences d'épidémies hydriques.

**En pratique, dans le cadre de cette étude, il existe très clairement une incertitude difficilement quantifiable liée à l'utilisation d'une relation dose-réponse.** Lorsque plusieurs relations sont disponibles, des choix transparents doivent être appliqués.

Les relations dose-réponse sélectionnées pour les pathogènes retenus dans l'étude sont présentées en détail à l'annexe B. En résumé, les choix fait par le groupe de travail se sont portés sur les relations suivantes :

**Pour les entérovirus :** la relation dose-réponse utilisée pour les calculs est celle correspondant aux valeurs centrales de l'étude WERF (2003). En effet, elle est très proche de celles de Haas (1999) (utilisée par Gerba (2002)) et de celle de Haas (1993) (utilisée par l'UK WIR (2003)).

$$\Rightarrow P(N) = 1 - (1 + N/0,42)^{-0,26}$$

**Pour Salmonella non typhi :** la relation dose-réponse utilisée pour les calculs est celle proposée par la FAO/WHO (2002). Elle est issue d'un travail d'experts internationaux.

$$\Rightarrow P(N) = 1 - (1 + N/51,45)^{-0,1324}$$

**Pour E coli O157:H7 :** il est proposé d'utiliser pour les calculs la relation dose-réponse établie par Teunis et al. (2004) à partir de données épidémiques.

$$\Rightarrow P(N) = 1 - (1 + N/1,001)^{-0,05}$$

**Pour *Cryptosporidium parvum*** : la relation dose-réponse utilisée pour les calculs est celle de Dupont et al. (1995), elle est utilisée dans l'étude de l'AFSSA (2002) et dans l'étude de l'UKWIR (2003).

$$\Rightarrow P(N) = 1 - \exp(-N/238)$$

### 2.2.3. EVALUATION DES EXPOSITIONS AUX BOUES

L'exposition à un agent pathogène contenu dans une boue suite à un épandage agricole dépend :

- des voies et des conditions d'exposition des individus cibles avec la boue,
- de sa concentration dans la boue.

Cette étape d'évaluation de l'exposition consiste à déterminer les milieux et les voies d'exposition, la fréquence et la durée d'exposition des personnes, et à quantifier l'exposition des populations sur la base d'un schéma conceptuel d'exposition. La figure 2 présente le schéma de principe de l'évaluation de l'exposition aux pathogènes des boues.

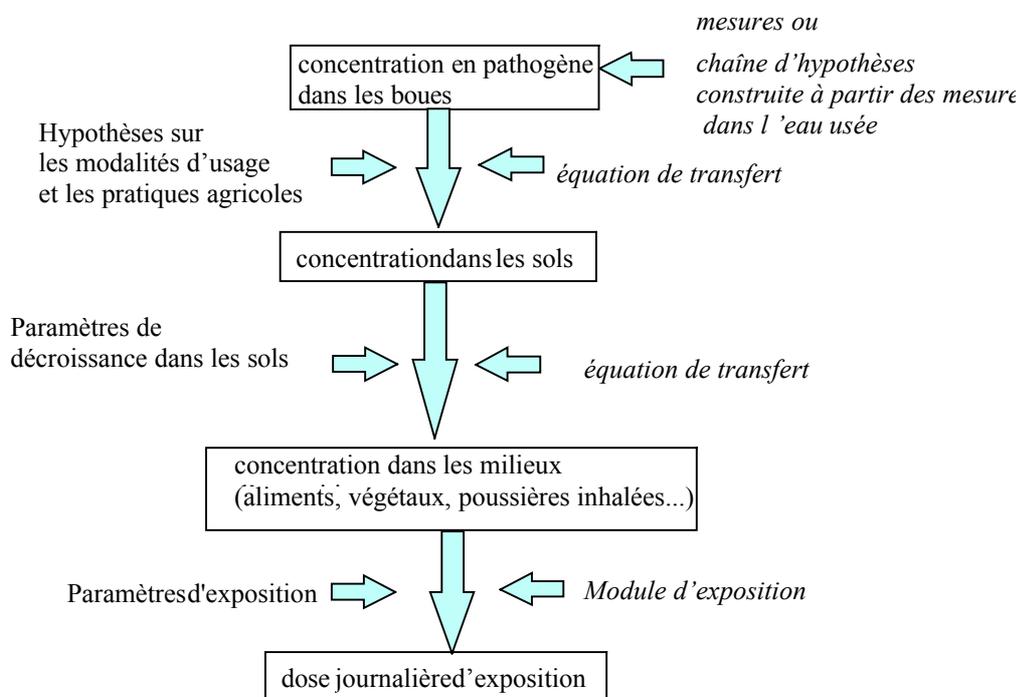


Figure 2 : schéma de principe de l'évaluation de l'exposition aux pathogènes contenus dans les boues.

En l'absence de données expérimentales de contamination des milieux environnementaux, suite à un épandage de boues sur une parcelle, une approche générique, ne correspondant pas à une situation réelle et reposant sur un grand nombre d'hypothèses de travail, a dû être prise en compte (détail des hypothèses en annexe B).

#### 2.2.3.1. POPULATIONS CIBLES ET VOIES D'EXPOSITION

Dans la bibliographie, que cela soit pour l'établissement de la réglementation ou le déroulement de démarche d'évaluation des risques, divers auteurs ont posé la

question des populations cibles ainsi que de leurs voies et conditions d'exposition. Ces éléments bibliographiques sont présentés dans l'annexe B.

Le groupe de travail souhaitant appliquer une démarche d'évaluation des risques à un cas pratique a fait le choix des populations prioritaires à prendre en compte pour son étude sur des critères de pertinence et de faisabilité s'étayant sur les données bibliographiques (chapitre 1 du rapport) et la réglementation en vigueur.

En résumé, pour l'utilisation des boues non hygiénisées :

◆ Sachant qu'aucun transfert des microorganismes d'intérêt sanitaire n'a à ce jour été mis en évidence dans les grandes cultures et que les traitements de transformations des aliments sont délétères pour les microorganismes

⇒ **les grandes cultures type blé, maïs, tournesol ne sont pas considérées par le groupe de travail comme un vecteur prioritaire du risque pathogène lié aux boues.**

◆ Sachant que la migration de salmonelles et *E. coli* O157 dans des cultures de type maraîcher a déjà été décrite dans la littérature, mais sachant aussi que les microorganismes ne survivront pas aux 18 mois de délai de mise en cultures des plantes maraîchères et fruitières (hors arbres fruitiers), après l'épandage conformément à la réglementation française

⇒ **les cultures maraîchères et fruitières directement en contact avec le sol ne sont pas considérées par le groupe de travail comme un vecteur prioritaire du risque pathogène lié aux boues.**

◆ Sachant que l'épandage sur culture d'arbres fruitiers ne se fait pas pendant la période de végétation des arbres

⇒ **les fruits ne sont pas considérés par le groupe de travail comme un vecteur prioritaire du risque pathogène lié aux boues.**

◆ Sachant que les taenias provoquent la seule parasitose d'intérêt sanitaire mais qu'il n'existe pas de relation dose-réponse disponible, sachant que le délai de retour au champ des bovins (hôte intermédiaire nécessaire à l'achèvement du cycle parasitaire) est de 6 semaines après l'épandage, sachant qu'une décroissance dans les populations pathogènes se produit pendant les 6 semaines, sachant que les carcasses animales font l'objet d'une surveillance à l'abattoir, sachant que les pratiques culinaires courantes éliminent le parasite de la viande,

⇒ **la viande des bovins pâturant sur les parcelles amendées n'est pas considérée par le groupe de travail comme un vecteur des taenia potentiellement présent dans la boues épandues.**

◆ Sachant qu'il n'existe pas à notre connaissance de données quantitatives sur la contamination microbiologique (autre que Taenia) des bovins paturant sur les parcelles épandues, sachant que la réglementation prévoit 6 semaines de délai entre la remise en pâture et l'épandage, sachant que la cuisson des aliments élimine les microorganismes, sachant que la veille faite par la cellule de veille sanitaire vétérinaire des épandages n'a jamais démontré l'implication des boues dans une pathologie vétérinaire,

⇒ **la viande des bovins pâturant sur les parcelles amendées n'est pas considérée par le groupe de travail comme un vecteur prioritaire du risque pathogène lié aux boues.**

**Conclusion 1** : les populations consommant les produits végétaux/animaux issus de la parcelle amendée ne sont pas des populations prioritaires à prendre en compte (confirmé pour partie par les résultats de Gale (2005)).

- ◆ Sachant qu'il n'existe pas à notre connaissance de méthode générique satisfaisante de modélisation des transferts des microorganismes du sol vers les eaux et que le groupe de travail n'a pu formuler des hypothèses pour la prise en compte de cette voie

⇒ **la voie eau n'est pas prise en compte dans l'évaluation des risques sanitaires.**

- ◆ Sachant que la réglementation prévoit des limitations d'usage pour les boues non hygiénisées en vue de la protection des eaux (récréatives, de consommation, d'irrigation cultures maraîchères)

⇒ **la voie eau n'est pas jugée prioritaire dans la présente étude.**

**Conclusion 2** : malgré un manque de données pour démontrer le strict non-transfert des pathogènes vers les eaux, la réglementation existante présente des garanties quant à la protection des eaux. Les consommateurs / utilisateurs d'eaux ne sont donc pas considérés comme des populations prioritaires à prendre en compte.

**Conclusion 3** : par élimination, pour son étude de cas dans le cadre des plans d'épandage soumis à autorisation, le groupe de travail a choisi comme cas d'illustration du déroulement de la démarche d'évaluation quantitative des risques sanitaires, les populations cibles suivantes :

- ✓ l'agriculteur travaillant sur la parcelle amendée,
- ✓ les riverains des sites d'épandage dont le potager jouxte la parcelle amendée et consommant leur production potagère.

**Remarque** : l'enfant jouant sur la parcelle amendée et potentiellement exposé via l'ingestion de poussières de sols n'a pas été considéré dans l'exercice pratique d'évaluation quantitative des risques pathogènes. En effet, l'objectif de l'exercice consiste à tester la démarche quantitative sur quelques scénarios d'exposition faisant intervenir les principales voies d'exposition jugées prioritaires et ce, afin d'en étudier les limites méthodologiques. En ce sens, le scénario « enfant jouant sur la parcelle amendée » est plausible mais se rapproche du scénario « agriculteur ». Par ailleurs, les relations dose-réponse qui sont construites sur des données épidémiologiques sont rarement issues d'épidémies chez l'enfant d'où un niveau d'incertitude supplémentaire sur la pertinence de l'utilisation de telles relations dose-réponse chez l'enfant.

### 2.2.3.2. LES VOIES ET CONDITIONS D'EXPOSITION ETUDIÉES

Pour évaluer les expositions de l'**agriculteur** travaillant la parcelle amendée par des boues et du **riverain** possédant un jardin potager à proximité de la parcelle, des scénarios pénalisants sont proposés en lien avec l'épandage de boues liquides non traitées sans enfouissement préalable au moment de l'épandage.

**Pour rappel, en l'absence de relations dose-réponse pour la voie d'exposition par inhalation, seule la voie par ingestion est étudiée dans l'étude de cas.**

**Scénario 1** : agriculteur potentiellement contaminé par ingestion de poussières de sol d'une parcelle (tracteur ouvert) soit 1a) lors de l'enfouissement des boues sous un délai de 24 heures après épandage (déchaumage) soit 1b) lors du travail ultérieur du sol destiné au labour un mois après l'enfouissement.

**Scénario 2** : le riverain potentiellement contaminé d'une part par ingestion de légumes-feuilles, légumes fruits et fruits cultivés sur un jardin potager riverain de la parcelle amendée contaminés par retombées atmosphériques d'aérosols de boues sur son jardin potager (épandage par rampes d'aspersion équipées de buses et conditions de vent défavorables) et d'autre part par ingestion des poussières de sol du jardin lors de son activité de jardinage

*Remarque* : En l'état actuel de la réglementation et dans le cadre de pratique raisonnable des épandages (limitation des nuisances olfactives), ces conditions sont habituellement interdites ou déconseillées.

**Scénario 3** : le riverain potentiellement contaminé d'une part par ingestion de légumes-racines crus (sauf pommes de terre consommées cuites) cultivés sur un jardin potager riverain de la parcelle amendée contaminé par l'érosion des sols (pluie + vent) de la parcelle amendée et d'autre part par ingestion de poussières de sol lors de son activité de jardinage

Les principales données nécessaires aux calculs sont présentées dans la figure 3. Leur description exhaustive est disponible dans l'annexe B.

Les items quantitatifs marqués d'un astérisque sont issus d'un consensus de dire-d'expert du groupe de travail. Ces données, bien que sérieusement réfléchies, mériteraient d'être validées par des études de terrain. Par défaut, les données proviennent de la littérature.

Les items marqués du symboles  sont ceux qui semblent entachés selon le groupe de travail de la plus forte incertitude (qui est par ailleurs le plus souvent non quantifiable).

*Remarque sur la plausibilité des scénarios* : les scénarios 2 et 3, sans être fréquents sont plausibles. En effet, la réglementation prévoit une distance de 100 mètres aux immeubles ou au ERP. Les 100 mètres ne s'appliquent pas spécifiquement à la limite de propriétés et il est possible qu'un potager soit inclus dans cette distance à la parcelle.

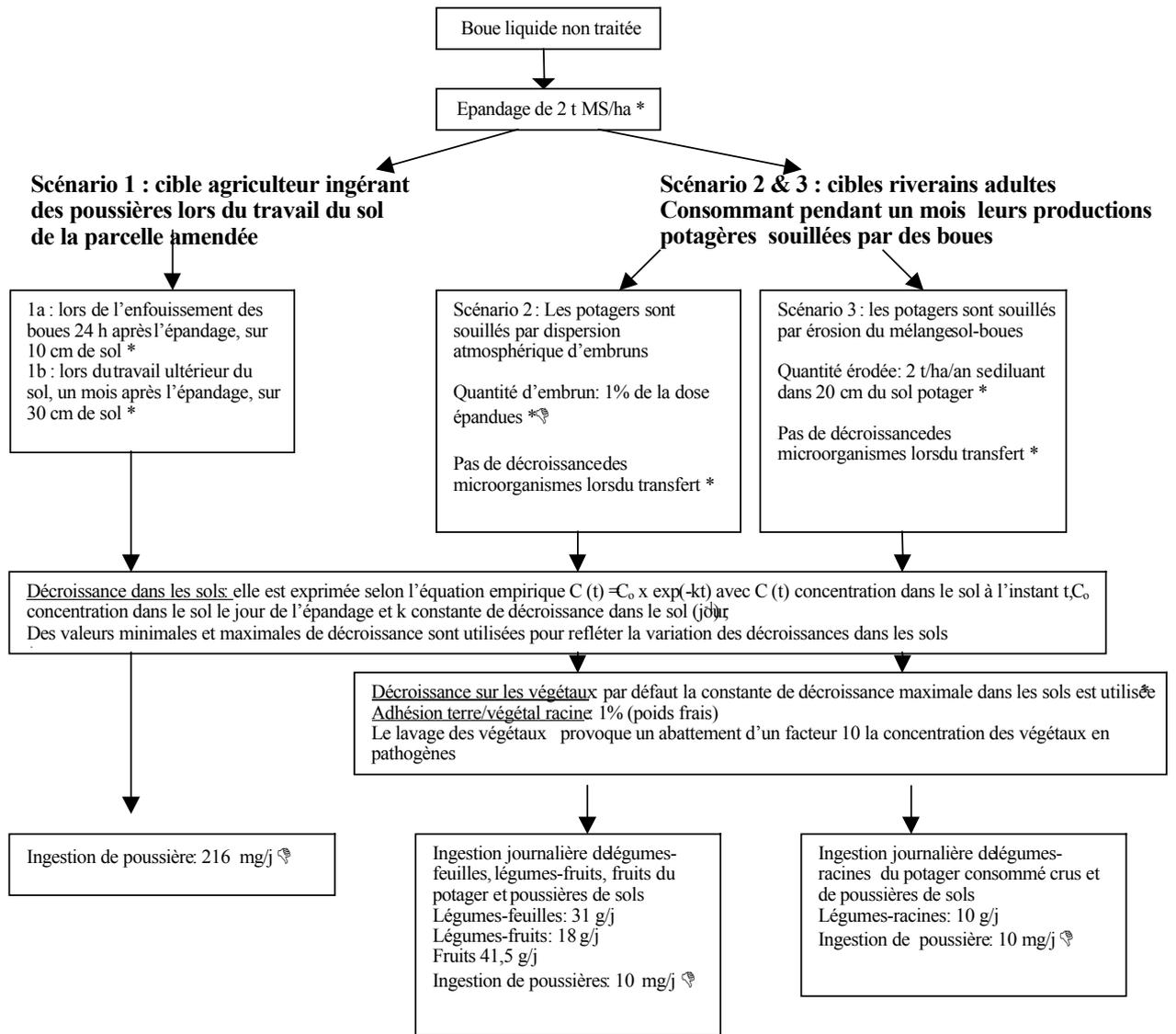


Figure 3 : principales hypothèses de l'exposition.

### 2.2.3.3. LES CONCENTRATIONS DANS LES BOUES

Cette étape a consisté à choisir, parmi l'ensemble des données de la littérature, des données de contamination des boues en agents pathogènes représentatives au niveau national en l'état des connaissances actuelles. Ces dernières ont été fixées par consensus d'experts.

Pour évaluer les risques pathogènes liés à l'épandage des boues, il a été choisi d'utiliser des valeurs ponctuelles (et non une distribution) de la contamination des boues disponibles au niveau français. La valeur retenue est la valeur moyenne (à l'exception des salmonelles) de façon à obtenir un ordre de grandeur du risque attendu.

Pour la plupart des agents pathogènes, la distribution de la contamination des différents types de boues est mal connue en France du fait de la non-obligation de mesurer les pathogènes avant épandage sauf pour les boues dites « hygiénisées ». Ainsi, on dispose de peu de données pour les entérovirus tandis que, pour *E. coli* O157:H7 et *Cryptosporidium spp.*, l'absence de données de

concentration des boues en France a entraîné l'utilisation de chaînes d'hypothèses reposant sur la contamination des fécès de bovins pour *E. coli* O157 :H7 (hypothèse moyenne d'isolement du pathogène) et sur la contamination de l'eau usée en entrée de station d'épuration pour *Cryptosporidium spp.*.

L'ensemble des hypothèses est présenté dans l'annexe B.

En résumé, la concentration des microorganismes retenue pour les calculs de risques est donnée dans le tableau 19.

Pathogène étudié	Concentration dans la boue liquide non traitée	Remarque
Entérovirus	280 NPPUC/ g MS	Concentration moyenne
Salmonelles	10 <sup>4</sup> UFC/ g MS	Concentration <u>maximale</u>
<i>E. coli</i> O157 : H7	0,6 UFC/ g MS	Concentration moyenne
<i>C. parvum</i>	100 oocystes / g MS	Concentration moyenne

Tableau 19 : concentrations dans les boues liquides non traitées utilisées pour les calculs de risques d'infection aux 4 pathogènes d'intérêt sanitaire sélectionnés.

Ces valeurs sont représentatives :

- ✓ des boues de station d'épuration urbaine pour les Entérovirus, les salmonelles et *C. parvum* ;
- ✓ des boues de station d'épuration urbaine traitant des effluents provenant d'abattoirs de bovins pour *E. coli* O157 : H7
- ✓ des boues d'abattoirs mixtes pour les salmonelles.

On ne dispose pas, en l'état des connaissances actuelles, de données sur la présence spécifique de *C. parvum* dans les boues d'abattoirs.

En ce qui concerne les boues produites par les laiteries, les quelques données disponibles (voir section 1.1.2.2 du présent rapport) indiquent l'absence d'entérovirus et d'œufs d'helminthes viables et une faible contamination en salmonelles, bien inférieure à la charge des boues urbaines ou issues d'abattoirs mixtes. On ne dispose pas de données pour *C. parvum* mais comme pour les salmonelles, on peut s'attendre à des concentrations beaucoup plus faibles que dans les boues urbaines.

Les flux de salmonelles et de *Cryptosporidium* provenant des boues épandues annuellement ont été calculés sur la base de 550 000 t MS/an et de 3% de la SAU (0,9.10<sup>6</sup> ha) pour comparaison avec les flux de pathogènes épandus provenant des effluents agricoles. Les calculs sont présentés dans le tableau 20.

	Flux de pathogènes épandus annuellement/ hectare	
	Boues d'épuration	Effluents agricoles
Salmonelles	6.10 <sup>9</sup> ( <u>charge maximale</u> )	1,2.10 <sup>9</sup> - 1,2.10 <sup>11</sup>
Oocystes de <i>Cryptosporidium</i>	6.10 <sup>7</sup>	1.10 <sup>10</sup> - 2.10 <sup>11</sup>

Tableau 20 : comparaison des flux de salmonelles et *Cryptosporidium* épandus en France provenant soit des boues d'épuration soit des effluents agricoles.

Il existe un facteur d'environ 0,2 à 20 entre les flux de salmonelles provenant des boues et celui provenant des effluents agricoles. Pour *Cryptosporidium*, il existe un facteur d'environ 170 à 3270 entre les flux provenant des boues et celui provenant des effluents agricoles.

#### **2.2.4. CARACTERISATION DES RISQUES POUR LES BOUES LIQUIDES NON TRAITEES**

On trouvera ici un résumé des résultats, leur description exhaustive étant disponible dans l'annexe B.

En l'état des connaissances actuelles, pour l'épandage de boues liquides non traitées, les calculs préliminaires ont montré que :

- Les doses d'exposition calculées à partir des scénarios étudiés sont très faibles, quelle que soit la personne exposée (agriculteur ou riverain) : à l'exception des salmonelles dans 2 cas particuliers (agriculteur 1a, décroissance minimale dans les sols et riverains retombées J1), les doses liées à l'ingestion de pathogènes en lien avec l'épandage des boues sont toujours inférieures à un pathogène/jour. Lors de l'épandage de boues liquides non traitées, l'exposition de l'agriculteur et du riverain sont jugées faibles en regard des doses rapportées lors d'épidémies d'origine alimentaire.
- Quelque soit le microorganisme considéré, les risques d'avoir au moins une infection sur la durée d'exposition calculés pour les cibles se hiérarchisent ainsi :

**scénario 2 > scénario 1a > scénario 1b > scénario 3**

- A l'exception du scénario 1b pour lequel le risque lié aux salmonelles est plus fort que celui lié aux entérovirus, quelque soit le scénario envisagé, les risques d'avoir au moins une infection sur la durée d'exposition calculés pour les cibles se hiérarchisent comme suit :

**Entérovirus > salmonelle > *Cryptosporidium parvum* > E. coli O 157**

- En ce qui concerne le risque lié au prion, les niveaux de risque calculés à partir de la démarche de Gale (2001) pour l'agriculteur qui enfouit les boues le premier jour après épandage, pour le riverain qui consomme des pommes de terre provenant de la parcelle amendée, pour le riverain consommant des végétaux de son jardin potager contaminés par retombées atmosphériques du fait de l'utilisation d'une rampe d'aspersion équipée de buses en conditions de vent défavorables, et pour le riverain consommant des végétaux de son jardin potager contaminés par érosion du sol de la parcelle amendée sont extrêmement faibles.

#### **2.2.5. ANALYSE DES INCERTITUDES DE L'EVALUATION DES RISQUES**

L'évaluation quantitative des risques repose sur un grand nombre d'hypothèses de travail et de valeurs de paramètres entourées d'incertitudes. En effet, en l'absence de données suffisantes, des valeurs considérées comme réalistes (quantité de terre érodée...) ou très conservatrices (quantité de bioaérosols dispersés) ont été utilisées suite à un consensus d'experts.

Les principales sources d'incertitudes sont liées :

- à l'estimation de la quantité de pathogènes dans les boues directement liée à l'hétérogénéité naturelle des quantités de pathogènes présents dans les boues et aux incertitudes liées aux outils d'analyse dans les boues (voir détails dans les chapitres 2.4.3.3 du rapport et 2.2 de l'annexe B).

- à l'évaluation de la relation dose-réponse (voir détails dans les sections 2.2.2.2 du présent rapport et 2.3 de l'annexe B). La relation dose-réponse donne le lien entre la dose et l'infection par l'agent pathogène (et non pas avec la déclaration de la maladie). Les rares relations proposées dans la littérature sont uniquement disponibles pour la voie d'exposition par ingestion et n'ont pas été construites pour la matrice boue. De plus, l'existence d'une immunité acquise ou des spécificités génétiques des individus ne sont pas pris en compte car ils sont difficilement quantifiables.
- aux scénarios d'exposition (voir détail dans la section 2.4.4 de l'annexe B) :

Les scénarios d'exposition utilisés pour l'agriculteur correspondent à la situation majorante d'ingestion de poussières de sol amendé du fait de l'utilisation d'un tracteur ouvert (par rapport à un tracteur fermé qui diminue de façon importante la quantité de poussières).

Les scénarios d'exposition utilisés pour les riverains sont basés sur des **hypothèses pénalisantes** (envol d'aérosols de boues liquides non traitées épandues avec une rampe d'aspersion équipée de buses en conditions défavorables de vent et érosion du sol de la parcelle amendée suite à un épisode de pluie + vent) qui ne sont pas représentatives des conditions « normales » d'épandage. Par ailleurs, dans le souci d'être dans une situation majorante, les comportements alimentaires sont pénalisants sur le taux d'autoconsommation des végétaux (régime agricole).

Les risques sont donc surestimés par rapport à la réalité.

Par ailleurs, 2 phénomènes n'ont pas été pris en compte :

- La décroissance des pathogènes résultant du stockage des boues,
- les pertes dans l'environnement dues au lessivage des végétaux lors de la pluie pour le scénario par retombées atmosphériques.

La prise en compte de la décroissance des pathogènes dans le sol et végétaux est très simplifiée : utilisation de valeurs minimales et maximales du taux de décroissance dans les sols issues d'une bibliographie non exhaustive appliquées de façon identique aux sols et aux végétaux.

Enfin, les hypothèses utilisées pour le scénario par retombées sont très incertaines du fait de l'absence de données réelles et repose donc sur un jugement d'experts (1% de la dose d'épandage aérosolisée). Elles nécessiteraient d'être validées par une campagne de mesure des aérosols prenant en compte les caractéristiques des boues, les conditions de déroulement de l'épandage en fonction de l'éloignement des habitations. En effet, d'après la littérature, aucun Entérovirus ou salmonelle n'a été détecté dans l'air lors d'un épandage de boues liquides en conditions peu ventées (voir chapitre 1.4.2.3 du présent rapport).

## **2.2.6. CONCLUSION**

L'évaluation des risques avait pour objectif d'estimer, en l'état actuel des connaissances, l'ordre de grandeur du risque sanitaire pathogène attendu pour les agriculteurs et les riverains liés à l'épandage de boues d'épuration non hygiénisées pour des scénarios d'exposition génériques.

Quatre pathogènes ont été sélectionnés pour une évaluation quantitative des risques : entérovirus, salmonelle, *E coli* O157 :H7 et *Cryptosporidium spp.*

L'agent de la maladie de la vache folle ou prion a également été pris en compte bien que la situation française ne soit pas préoccupante.

Parmi les pathogènes non sélectionnés par le groupe de travail qui mériteraient un approfondissement en terme de risque sanitaire lorsque des connaissances supplémentaires seront disponibles, citons les virus (Adénovirus, Astrovirus...), le parasite *Taenia saginata*, *Campylobacter jejuni* et *C. coli*.

Le travail a permis d'identifier les difficultés méthodologiques et les incertitudes liées aux lacunes des connaissances dans le cadre de l'évaluation des risques microbiologiques des épandages de boues d'épuration soumis à autorisation.

Il ressort de l'évaluation que, en l'état des connaissances actuelles :

- Il n'est pas possible d'évaluer les risques d'infection par inhalation de poussières de sol amendé (agriculteur) ou de bioaérosols (riverain) ; seuls les risques d'infection liés à une exposition par ingestion peuvent être quantifiés ;
- l'exposition de l'agriculteur et du riverain aux boues suite à un épandage de boues liquides non traitées, évaluée dans le cadre des scénarios d'exposition détaillés dans cette étude, est jugée très faible en regard des doses rapportées lors d'épidémies d'origine alimentaire ;
- les riverains exposés par ingestion de végétaux de son jardin potager contaminés par retombées atmosphériques de bioaérosols de boues suite à l'utilisation d'une rampe d'aspersion équipée de buses en conditions de vent défavorables et l'agriculteur enfouissant les boues 24 heures après épandage seraient les populations les plus « à risque » ; pour le riverain exposé via l'érosion du sol de la parcelle amendée, les risques d'infection calculés sont très faibles, quel que soit le pathogène considéré ;
- les entérovirus et les salmonelles sont les pathogènes pour lesquels les niveaux de risque d'infection estimés lors de ce travail sont les plus élevés, quel que soit la population exposée ;
- les risques liés à la présence potentielle de prion dans les boues d'abattoirs sont extrêmement faibles en application de la démarche anglaise de Gale (2001).

Le groupe de travail en a déduit des conclusions générales sur les données à acquérir et des conclusions particulières sur la pertinence d'évaluation quantitative des risques microbiologiques dans le cadre des plans d'épandage soumis à autorisation.

D'un point de vue prospectif, l'acquisition des connaissances suivantes permettraient de réduire les incertitudes de l'évaluation quantitative :

- Distributions de la charge des pathogènes dans les boues ;
- Développement des tests simplifiés de pathogénicité des agents biologiques dans les boues (facteurs de virulence),
- Etude de la dispersion des bioaérosols de boues dans l'air lors de l'utilisation de matériel émetteur comme les buses d'aspersion.

Sur l'application de la méthode quantitative aux plans d'épandage soumis à autorisation, le groupe de travail émet l'avis suivant :

- Compte-tenu du manque de données pour proposer un scénario d'exposition fiable et des lacunes scientifiques sur l'utilisation des relations dose-reponse et le modèle de transfert des pathogènes des boues dans l'environnement, **il n'est**

**pas pertinent de proposer une évaluation quantitative des risques dans le cadre des autorisations des épandages.**

- Il n'en demeure pas moins que les populations cibles envisagées dans le présent travail restent à prendre en compte si elles existent sur le site étudié dans le cadre du plan d'épandage. **Il est proposé que cette discussion soit menée de manière qualitative** selon la démarche inscrite dans le « Guide d'analyse et de maîtrise des risques biologiques associés à l'épandage des boues d'épuration ».

### 3. CONCLUSION GENERALE

---

---

Cette étude de faisabilité avait pour objectif, sur la base des données disponibles dans la littérature, d'évaluer les risques sanitaires liés aux agents pathogènes dans le contexte national des études d'impact des plans d'épandage des boues de stations d'épuration urbaines et industrielles soumis à autorisation.

L'analyse des données disponibles dans la littérature a été menée dans un souci d'exhaustivité par rigueur scientifique. Elle a permis de dresser de nombreux constats dont le premier est que depuis 30 ans que l'on pratique l'épandage agricole de boues d'épuration des eaux usées en France, l'épandage des boues n'a jamais été mis en cause lors des enquêtes sur des épidémies d'origine environnementale.

Bien que plusieurs travaux de recherche aient été entrepris depuis une dizaine d'année sur les risques pathogènes liés aux boues, le champ des connaissances nécessaires à une évaluation des risques pertinente et opérationnelle est encore immense.

La méthodologie a été testée dans un cas d'étude pour quatre pathogènes pour lesquels les données étaient suffisantes pour conduire un essai de quantification des risques. L'absence de données expérimentales a conduit le groupe de travail à discuter l'élaboration de scénarios d'exposition génériques des populations aux boues reposant sur de nombreuses hypothèses de travail.

A l'issue de cet exercice, le groupe de travail a conclu que, compte-tenu du manque de données pour proposer un scénario d'exposition fiable et des lacunes scientifiques sur l'utilisation des relations dose-reponse, **il n'est pas pertinent de proposer une évaluation quantitative des risques dans le cadre des autorisations des épandages.**

Les limites intrinsèques de cette approche quantitative donnent un poids supplémentaire aux mesures de précaution qui doivent conduire à la limitation des risques, à savoir :

- préférer l'enfouissement des boues qui réduit à zéro les risques liés aux aérosols;
- pour les agriculteurs, respecter les règles d'hygiène (se laver les mains etc...), mise en place des moyens de protection nécessaires à leur travail (utilisation d'un tracteur équipé d'une cabine dans le cas de boues non hygiénisées) lors de l'enfouissement directement après épandage ;
- identifier et prendre en compte les usages sensibles autres que ceux prévus dans la réglementation (notamment les potagers non adossés aux habitations et présents en aval direct de parcelles épandables) dans les distances d'éloignement au même titre que les habitations ou cours d'eau.

Une approche qualitative des risques pathogènes liés à l'épandage des boues est donc recommandée pour les plans d'épandage soumis à autorisation : un « Guide d'analyse et de maîtrise des risques biologiques associés à l'épandage des boues d'épuration » a ainsi été élaboré.

## 4. BIBLIOGRAPHIE

---

---

- ACGIH (1999). Bioaerosols Assessment and Control, J Macher.
- ACGIH (2003). TLVs and BEIs, threshold limit values for chemical substances and physical agents & biological exposure indices.
- ADEME (1994). Les germes pathogènes dans les boues résiduelles des stations d'épuration urbaines.
- ADEME (1999). Epanchage de boues d'épuration sur prairies et cultures fourragères. Aspects microbiologiques.
- ADEME (1999). Les agents biologiques d'intérêt sanitaire des boues d'épuration urbaines.
- ADEME (2001). Les boues d'épuration municipales et leur utilisation en agriculture.
- AFSSA (2000). Actualisation de l'évaluation du risque sanitaire lié à *Listeria monocytogenes* au stade de la distribution commerciale.
- AFSSA (2000a). Alimentation animale et sécurité sanitaire des aliments.
- AFSSA (2000b). Actualisation de l'évaluation du risque sanitaire lié à *Listeria monocytogenes* au stade de la distribution commerciale: 144.
- AFSSA (2002). Rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : évaluation scientifique des risques liés à *Cryptosporidium sp.*
- AFSSA (2003a). Risque sanitaire au regard de l'ESB liés aux rejets dans l'environnement des effluents et boues issus d'abattoirs et d'équarrissages: 34.
- AFSSA (2003b). Appréciation des risques alimentaires liés aux campylobacters, application au couple poulet / *Campylobacter jejuni*. Paris.
- AFSSA (2003c). Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (*STEC*).
- AFSSA (2004). Fiche de données microbiologiques : *Salmonella spp.*
- AGHTM (2002). Impact du futur projet européen sur la valorisation des boues en agriculture - campagne d'analyses sur 60 boues de STEP: 139.
- Altmeyer, N., G. Abadia, et al. (1990). "Risques microbiologiques et travail dans les stations d'épuration des eaux usées." Documents pour le médecin du travail **44** (fiche n°34).
- ArthurAndersen (2001). Disposal and recycling routes for sewage sludge, part 3- Scientific and technical report, European Commission: 221p.
- Berron, P. (1984). "Valorisation agricole des boues de stations d'épuration - aspects microbiologiques." TSM **11**: 549-556.
- Bicudo, J. and M. Goyal (2003). "Pathogens and manure management systems : a review." Environmental Technology **24**: 115-130.
- Bigras-Poulin, M. (2004). "Development of agroenvironmental indicators to evaluate the hygienic pressure of livestock production on human health." International Journal of Hygiene and Environmental Health **207**: 279-295.

- Bodley-Tickell, A. (2002). "Occurrence of *Cryptosporidium* in agricultural surface waters during an annual farming cycle in lowland UK." Water Research **36**: 1880-1886.
- Boisselier, C. (1997). Utilisation de boues d'épuration en vergers, Impact sur la qualité des productions fruitières, Chambre d'agriculture de l'Ardèche.
- Bolze, S. (2002). Evaluation du risque microbiologique aéroporté en végétalisation, rapport ADEME.
- Bouedo, Bertru, et al. (1991). "Etude du risque de contamination fécale des eaux après épandage de lisier." Informations techniques du CEMAGREF **84**: 1-8.
- Brautbar, N. (1999). "Brief communication: sewage workers: occupational risk for hepatitis C. Report of two cases and review of literature." Archives of Environmental Health **54**(5): 328-330.
- Brooks, J., B. Tanner, et al. (2004). "Bioaerosols from the land application of biosolids in the desert southwest USA." Water Science and Technology **50**(1): 7-12.
- Brooks, J., B. Tanner, et al. (2005a). "Estimation of bioaerosol risk of infection to residents adjacent to a land applied biosolids site using an empirically derived transport model." Journal of Applied Microbiology **98**: 397-405.
- Brooks, J. (2005b). "National Study on Residential Impact of Biological Aerosols from Land Application of Biosolids." Journal of Applied Microbiology **99**: 310-322.
- Brouillard, C. (2003). Sélection des agents biologiques prioritaires à prendre en compte dans l'évaluation des risques liés au retour au sol des déchets organiques d'origine urbaine en France métropolitaine et dans les DOM-TOM. Tome 1 et tome 2. Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP.
- Bünger, J. and M. Antlauf-Lammers (2000). "Health complaints and immunological markers of exposure to bioaerosols among biowaste collectors and compost workers." Occup Environ Med **57**: 458-464.
- Burton, C. H. and C. Turner (2003). Manure management ,Treatment strategies for sustainable agriculture, Silsoe Research Institute.
- Cabaret, J., S. Geerts, et al. (2002). "The use of urban sewage sludge on pastures : the cysticercosis threat." Vet. Res. **33**: 575-597.
- Cardiergues, B. (2000). Boues d'épuration et microorganismes pathogènes : influence de différents traitements et du stockage. Biologie et Santé. Nancy, Université Henri Poincaré, Nancy I: 240 p.
- Chambred'Agriculture07 (1998). Suivi de la contamination des prairies suite à de épandages de boues d'épuration- Courcouron, Chambred'Agriculture de l'Ardèche.
- Chapron, C. (2000). "The detection of *Astrovirus* in sludge biosolids using an integrated cell culture nested PCR technique." Journal of Applied Bacteriology **89**(1): 11-15.
- Chauret, C., S. Springthorpe, et al. (1999). "Fate of *Cryptosporidium* oocysts, *Giardia* cysts, and microbial indicators during wastewater treatment and anaerobic sludge digestion." Can. J. Microbiol. **45**: 257-262.

- Coleman M. (1998). "Topics in dose-response modelling." Journal of Food Protection **61**(11): 1550-1559.
- CSHPF (1998). Risques sanitaires liés aux boues d'épuration, Technique & Documentation.
- Deglin, S. (2002). Epandage des boues de stations d'épuration de ruminants: quel risque microbiologique ? Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP.
- Déléry, L. (2003). Données disponibles pour l'évaluation des risques liés aux bioaérosols émis par les installations de stockage des déchets ménagers et assimilés, rapport INERIS pour le ministère de l'Environnement.
- Deloraine, A. (2002). Etude bibliographique sur l'évaluation des risques liés aux bioaérosols générés par le compostage des déchets, CAREPS: 215.
- Devaux, I. (1999). Intérêts et limites de la mise en place d'un suivi sanitaire dans le cadre de la réutilisation agricole des eaux usées traitées de l'agglomération clermontoise. Sciences de la vie et de la santé. Grenoble, Joseph Fourier.
- Dowd, S. (1997). "Thermotolerant Clostridia as an airborne pathogen indicator during land application of biosolids." Journal of Environmental Quality **26**(1): 194-199.
- Dowd, S. (2000). "Bioaerosol transport modelling and risk assesement in relation to biosolids placement." J. Environ. Qual. **29**: 343-348.
- Dowe, M. (1997). "Listeria monocytogenes survival in soil and incidence in agricultural soils." Journal of Food Protection **60**(10): 1201-1207.
- Droffner, M. and W. Brinton (1995). "Survival of *E. coli* and *Salmonella* populations in aerobic thermophilic composts as measured with DNA gene probes." Zentralblatt fur Hygiene und Weltmedizin **197**(5): 387-397.
- Duffy, G. (2003). "Verotoxigenic *Escherichia coli* in animal faeces, manures and slurries." Journal of Applied Microbiology **94**: 94S-103S.
- Dumontet, S. (2001). "The importance of pathogenic organisms in sewage and sewage sludge." J. Air & Waste Manage. Assoc. **51**: 848-860.
- EC (2001). Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction, European Commission: 44p.
- EC (2001). Survey of wastes spread on land, European Commission Directorate General for Environment: 3p.
- Forcier, F. (2002). Biosolids and bioaerosols : the current situation, SOLINOV Inc for Québec ministry of environment.
- Fransen, N. (1996). "Pathogenic micro-organisms in slaughterhouse sludge - a survey." International Journal of Food Microbiology **33**: 245-256.
- Fravalo, P. (2002). Qualification du niveau de contamination par Salmonella d'un échantillon par miniaturisation de techniques. Colloque International Francophone de Bactériologie Vétérinaire, Ploufragan, France.
- Gale, P. (2002). Risk assesment : use of composting and biogas treatment to dispose of catering waste containing meat, report to the Department of Environment, Food and Rural Affairs UK: 182 p.

- Gale, P. (2005). "Land application of treated sewage sludge: quantifying pathogen risks from consumption of crops." Journal of applied Bacteriology **98**(2): 380-396
- Ganière, J. and M. Legeas (1997). Epannage de boues résiduelles des stations d'épuration : risque microbiologique (sources, teneurs, nature et devenir des agents pathogènes). communication Journées techniques 5-6 juin 1997 de l'ADEME sur les aspects sanitaires et environnementaux de l'épandage des boues d'épuration urbaines.
- Gantzer, C. (2001). "Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge." Water Research **35**(16): 3763-3770.
- Garrec, N. (2003). Détection et étude de la survie de *Listeria monocytogenes* dans les boues d'épuration destinées à l'épandage. Thèses de microbiologie fondamentale et appliquée. Angers, Ecole doctorale d'Angers: 169p.
- Gaspard, P. (1995). Contamination parasitaire dans l'environnement : prospective pour un gestion des risques sanitaires. Biologie et santé. Nancy, Henri Poincaré: 228p.
- Gaspard, P., Y. Ambolet, et al. (1997). "Valorisation des boues de stations d'épuration en vue de l'amélioration des sols destinés à l'agriculture : contamination parasitaire et modélisation en vue de la gestion du risque sanitaire." Bull. Acad. Natle Méd. **1**: 43-57.
- Gaspard, P. and J. Schwartzbrod (2003). "Parasite contamination (helminth eggs) in sludge treatment plants : definition of a sampling strategy." International Journal of Hygiene and Environmental Health **206**: 1-6.
- Gaspard, P., J. Wiart, et al. (1997). "Parasitological contamination of urban sludge used for agricultural purposes." Waste Management & Research **15**: 429-436.
- Gerba, C. (2002). "A risk assessment of emerging pathogens of concern in the land application of biosolids." Water Science and Technology **46**(10): 225-230.
- Gibbs, R. (1997). "Regrowth of faecal coliforms and salmonellae in stored biosolids and soil amended with biosolids." Water Science and Technology **35**(11-12): 269-275.
- Graczyk, T. (2000). "Environmental and geographical factors contributing to watershed contamination with *Cryptosporidium parvum* oocysts." Environmental Research Section A **82**: 263-271.
- Gregersen, P., K. Grunnet, et al. (1999). "Pontiac fever at a sewage treatment plant in the food industry." Scandinavian Journal of Work Environment & Health **25**(3): 291-295.
- Haas, C. (1999). Quantitative microbial risk assessment, John Wiley & Sons, inc.
- Heederick, D. and J. Douwes (1997). "Towards and occupational exposure limit for endotoxins ?" Ann Agric Environ Med **4**: 17-19.
- Herau, V. (2003). Risque sanitaire microbiologique lié aux effluents d'abattoirs : comparaison d'une synthèse bibliographique avec une étude de terrain. Ecole Nationale Vétérinaire. Toulouse, Paul Sabatier: 139 p.
- Hooda, P. (2000). "A review of water quality concerns in livestock farming areas." The Science of Total Environment **250**: 143-167.

Horswell, J., V. Ambrose, et al. (2004). Survival and possible transmission of pathogens from sewage sludge (biosolids) to lettuce plant tissue. SuperSoil 2004, 3rd Australian New Zealand Soils Conference, University of Sydney, Australia.

HSE (2002). The chronic health effects of exposure to biological agents, Health & Safety Executive.

Hydro-M (2004). Microbiologie et environnement : les effluents de la filière viande, INTERBEV/ FNEAP - AELB/AESN: 9p.

ILSI, A revised framework for microbial risk assessment, Workshop report, 2000.

INRA (2003). AGREDE Agriculture et épandage de déchets urbains et agro-industriels.

INRA-ENVT (2002). Bactéries pathogènes dans les effluents d'abattoirs: aide à l'évaluation des risques pour la santé publique. Toulouse, équipe environnement de l'UMR 960.

INRS (1990). "Risques microbiologiques et travail dans les stations d'épuration des eaux usées." Documents pour le médecin du travail **44**: 374-387.

INRS (1996). "Risques microbiologiques en stations d'épuration - résultats d'enquête." Documents pour le médecin du travail **67**: 246-254.

INRS (1997). "XXIVes journées nationales de médecine du travail." Archives des maladies professionnelles **58**(4).

INRS/ EE EGT (2004). Etudes épidémiologiques parmi le personnel des égoutiers de la ville de Paris, rapport d'étude réf. INRS/EE EGT - EGOUT 2004, 86 pages

InVS (2001). Epidémie de gastro-entérites à germes multiples liée à la consommation de l'eau de distribution Gourdon, Lot (47), août septembre 2000.

InVS (2003). Epidémie de gastro-entérites à *Cryptosporidium* Dracy -le-Fort, Saône et Loire (71), septembre 2001.

InVS (2004). Epidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002.

Jimenez, B. (2002). "Comparison of the quantity and the quality of the microbiological content of sludge in countries with low and high content of pathogens." Water Science and technology **46**(10): 17-24.

Jimenez-Cisneros, B. (2001). "The elimination of helminth ova, fecal coliforms, Salmonella and protozoan cysts by various physicochemical processes in wastewater and sludge." Water Science and technology **43**(12): 179-182.

J.U.V.E.N (1993). Recherche bibliographique sur le risque de contamination bactérienne du lait suite à l'épandage de boues d'épuration sur les prairies, Ets de l'ENVN.

Jamieson, R. (2002). "Movement and persistence of fecal bacteria in agricultural soils and subsurface drainage water: a review." Canadian Biosystems Engineering **44**: 1.1-1.9.

Jones, P. (1980). "The occurrence and significance to animal health of salmonellas in sewage and sewage sludge." J. Hyg. Camb. **84**: 47-62.

Jones, K. (1990). "Seasonal variation of thermophilic campylobacters in sewage sludge." J. Applied Bacteriology **69**(2): 185-189.

- Jones, K. (2001). "Campylobacters in water, sewage and the environment." Journal of Applied Bacteriology **90**: 68S-79S.
- Kato, S., E. Fogarty, et al. (2003). "Effect of aerobic and anaerobic digestion on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Ascaris suum* eggs." International Journal of Environmental Health Research **13**: 169-179.
- Koenraad (1994). "Survey of *Campylobacter spp.* in sewage plants in the Netherlands." Food Microbiology **11**: 65-73.
- Langeland, G. (1983). "*Yersinia enterocolitica* and *Yersinia enterocolitica*-like bacteria in drinking water and sewage sludge." Acta Pathol Microbiol Immunol Scand **91**(3): 179-185.
- Larkin, E. (1977). Land application of sewage wastes : potential of foodstuffs and agricultural soils by viruses and bacterial pathogens. Risk assessment and health effects of land application of municipal wastewater and sludges.
- Leclerc, H. and D. Mossel (1989). Microbiologie : le tube digestif , l'eau et les aliments.
- Lewis, D. L. and D. K. Gattie (2002). "Pathogen risks from applying sewage sludge to land." Environmental Science and Technology(july): 287A-293A.
- Liver, S., E. Apedaile, et al. (2003). Review of health -related aspects of biosolids land application. WEFTEC.
- Madeline, M., C. Ballandonne, et al. (2000). "Mise en évidence de la viabilité des oeufs de Taeniidés dans les boues résiduaires urbaines." Journal Européen d'Hydrologie **31**(1): 85-90.
- Madeline, M. (2003a). Evaluation du risque sanitaire (parasitaire et virologique) des boues résiduaires urbaines en agriculture et des eaux épurées dans l'environnement. Sciences pharmaceutiques, université de Caen.
- Madeline, M., C. Ballandonne, et al. (2003). "Boues résiduaires : difficultés d'évaluation du risque parasitaire." Journal européen d'hydrologie **tomé 34**(fasc. 2): 235-244.
- Marly (1995). Maîtrise des risques de contamination de l'environnement par les salmonelles liés aux stockage et à l'utilisation des effluents d'élevage, Institut de l'Elevage.
- Monpoého S. (2001). Quantification génomique de 2 virus entériques (entérovirus et HAV) dans els boues de stations d'épuration. Estimation de l'impact sanitaire lié à leur valorisation agricole. chimie biologie. Nantes, Faculté de Pharmacie: 177 pages.
- Moussavou-Boussougou, M. N. (2004). Epannage des boues d'épuration urbaine et des lisiers sur les pâturages : risque parasitaire pour les ruminants. Thèse de Sciences. Tours: 139 pages.
- Murray, C. (1991). "*Salmonellae* in the environment." Rev. sci.Off. int. Epiz **10**(3): 765-785.
- NANCIE (2000). "Micropolluants organiques et germes pathogènes dans les boues d'eaux résiduaires."

NIOSH (2000). Hazard ID 10 : workers exposed to class B biosolids during and after land application, DHHS, CDC.

NRC (2002). Biosolids applied to land: advancing standards and practices, The national Academies Press.

Olson, M. E. (1999). "*Giardia* cyst and *Cryptosporidium* oocyst survival in water, soil and cattle feces." J. Environ.Qual. **28**: 1991-1996.

Paillard, D. (2003). Prévalence et résistance aux antibiotiques de *Listeria* spp. dans les effluents de stations d'épuration. Doctorat de l'université Uppa. Pau.

Palmer, C. (1993). "Detection of *Legionella* species in sewage and ocean water by polymerase chain reaction, direct fluorescent-antibody and plate culture methods." Applied and Environmental Microbiology **59**(11): 3618-3624.

Payment, p. (1993). Risques d'exposition des travailleurs à des virus entériques suite à l'épandage de boues provenant de stations d'épuration d'eaux usées municipales. Laval, Centre de recherche en virologie, université du Québec.

Perdrix, A., N. Madon, et al. (1997). Risques biologiques autres qu'infectieux. Encyl Méd Chir. E. Paris.

Pillai (1996). "Occurrence of airborne bacteria and pathogen indicators during land application of sewage sludge." Applied and Environmental Microbiology **62**(1): 296-299.

Piquet, M. L. (2004). Amélioration de la prise en compte des facteurs humains de l'exposition lors d'épandages de boues, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP.

Pompée, E. (2003). Evaluation des risques sanitaires biologiques liés à l'épandage de boues issues d'abattoirs de porcs et de volailles: étude de faisabilité dans le contexte français. Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP.

Renouf, F. (1995). Etude bactériologique des effluents des industries agro-alimentaires sur le littoral normand, AESeineNormandie: 82.

Rose, J. (1997). "Environmental ecology of *Cryptosporidium* and public health implications." Annu. Rev. Public Health **18**: 135-161.

Rusin, P. A. and e. al. (2003). "Evidence ce for the absence of *Staphylococcus aureus* in land applied biosolids." Environmental Science and Technology **37**: 4027-4030.

Schaffter, N. and A. Parriaux (2002). "Pathogenic-bacterial water contamination in mountainous catchments." Water Research **36**: 131-139.

Sahlstrom, L. (2004). "Bacterial pathogen incidences in sludge from Swedish sewage treatment plants." Water Research **38**: 1989-1994.

Schlosser, O. (1999). "intestinal parasite carriage in workers exposed to sewage." European Journal of Epidemiology **15**(3): 261-265.

Schwartzbrod, J. and e. al. (2002). Parasitic protozoa : fate in wastewater treatment plants. Encyclopedia of environmental microbiology. Wiley.

Schwartzbrod, J. and S. Banas (2003). "Parasite contamination of liquid sludge from urban wastewater treatment plants." Water Science and Technology **47**(3): 163-166.

- Servent, H. (2002). Microbiologie des rejets d'abattoirs et d'établissement d'équarrissage, rapport ISIGE pour AESeine Normandie.
- Sidhu, J. (2001). "The role of indigenous microorganisms in suppression of Salmonella regrowth in composted biosolids." Water Research **35**(4): 913-920.
- Smith, S. (1996). Agricultural recycling of sewage sludge and the environment, CAB International.
- Solomon, E. (2002). "Transmission of Escherichia coli O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization." Applied and Environmental Microbiology **68**(1): 397-400.
- Stampi, S., F. Zanetti, et al. (2000). "Occurrence and seasonal variation of airborne Gram negative bacteria in a sewage treatment plant." Microbiologica **23**(1): 97-104.
- Straub, T. M., I. L. Pepper, et al. (1993). "Hazards from pathogenic microorganisms in land-disposed sewage sludge." Reviews of environmental Contamination and and Toxicology **132**: 55-91.
- Tanner, B., J. Brooks, et al. (2005). "Bioaerosols emission rate and plum characteristics during land application of liquid class B biosolids." Envir. Sci. Technol. **39**: 1584-1590.
- Teunis, P. (1996). The dose-response relation in human volunteers for gastrointestinal pathogens. Bilthoven, The Netherlands, Rijkinstituut voor volksgezondheid en milieu
- Teunis, P. (2004). "Dose response for infection by Escherichia coli O157: H7 from outbreak data." Risk analysis **24**(2): 401-407.
- Thiriat, L. (1998). Valorisation agricole des boues résiduelles : dénombrement des kystes de *Giardia sp.* et estimation de leur impact sur le risque sanitaire. biologie et santé. Nancy, Henri Poincaré: 231p.
- Thirion, F. and F. Chabot (2003). Epandage des boues résiduelles et effluents organiques, matériels et pratiques, CEMAGREF Editions.
- Tyrrel, S. and J. Quinton (2003). "Overland flow transport of pathogens from agricultural land receiving faecal wastes." Journal of applied Microbiology **94**: 87S-93S.
- Udeh, P. and J. Veenstra (2003). "Field inactivation of oocysts exposed to agricultural land." water, Air and Soil Pollution **142**: 211-228.
- UKWIR (2000). Methods for the detection of pathogens in biosolids, UK Water Industry Research.
- UKWIR (2003). Pathogens in biosolids- Microbiological risk, UK Water Industry Research, Environmental Agency, DEFRA.
- USEPA (1999). Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge, Office of Research and Development.
- Vernozy-Rozand, C. and M.-P. Montet (2001). Evaluation du danger lié à la présence des *Escherichia coli* vérotoxiques dans des prélèvements

environnementaux : effluents d'élevage et boues de STEP. Marcy l'Etoile, Ecole vétérinaire de Lyon: 29p.

Vernozy-Rozand, C., M.-P. Montet, et al. (2002). "Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in slurry, farmyard manure and sewage sludge in France." Journal of Applied Microbiology **93**: 473-478.

Villey, S. (2003). Bilan de l'industrie laitière et évolution de 1991 à 2001 sur le bassin Seine Normandie, Agence de L'Eau Seine Normandie.

Wanatabe, T. (1997). "Inactivation of pathogenic bacteria under mesophilic and thermophilic conditions." Water Science and technology **36**(6-7): 25-32.

Watabe, M. (2003). "Prevalence of bacterial faecal pathogens in separated and unseparated stored pig slurry." Letters in Applied Microbiology **36**: 208-212.

WERF (2003). A dynamic model to assess microbial health risks associated with beneficial uses of biosolids : phase 1, Water Environment Research Foundation.

Whitmore, T. N. and L. J. Robertson (1995). "The effect of sewage sludge treatment processes on oocysts of *Cryptosporidium parvum*." Journal of Applied Bacteriology **78**: 34-38.

WHO/FAO (2002). Microbiological Risk Assessment Series 2, Risk Assessments of Salmonella in Eggs and Broiler Chickens - 2.

WHO/FAO (2004). Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food. Rome, Italy.

Wray Bvm, C. (1975). "Survival and spread of pathogenic bacteria of veterinary importance within the environment." The Veterinary Bulletin **45**(8): 543-550.

Zweifel, C., M. Zychowska, et al. (2004). "Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* and *Campylobacter spp.* isolated from slaughtered sheep in Switzerland." International Journal of Food Microbiology **92**: 45-53.

## 5. LISTE DES ANNEXES

---

---

<b>Repère</b>	<b>Désignation</b>	<b>Nb de pages</b>
A	Fiches des dangers	8
B	Evaluation quantitative des risques sanitaires	61

# **Annexe A**

## **Fiches dangers**



---

## **Enterovirus**

---

### **Dénomination**

- FAMILLE : *Picornaviridae*
- GENRE : *Enterovirus*
- ESPECES :
  - virus poliomyélitiques (*Poliovirus*) : 3 sérotypes
  - virus Coxsackie (*Coxsackievirus* A : 23 sérotypes et B : 6 sérotypes)
  - virus Echo (*Echovirus*) : 32 sérotypes
  - Entérovirus 68 à 71 (*Enterovirus*)

### **Caractéristiques**

- Virus nus :
  - capsidie icosaédrique (4 protéines : VP<sub>1</sub>, VP<sub>2</sub>, VP<sub>3</sub>, VP<sub>4</sub>),
  - génome à ARN monocaténaire à polarité positive.
- Taille : 22 à 30 nm,
- Invisibles en microscopie photonique (optique),
- Visibles en microscopie électronique.

### **Mode de contamination**

Inhalation et ingestion

### **Pathogénicité**

#### **• Infection**

- Après pénétration du virus par voie orale ou respiratoire, le virus se multiplie dans le tissu lymphoïde du pharynx et au niveau de l'intestin (plaques de Peyer),
- La plupart des infections provoquées par les entérovirus sont inapparentes et se produisent pendant l'enfance.

#### **• Maladie**

Les entérovirus peuvent être responsables de pathologies très variées allant de l'infection inapparente jusqu'à une maladie mortelle (Tableau ci-après). La plupart des individus infectés ne présentent pas de symptômes cliniques.

### **Populations sensibles**

Coxsackievirus : enfants de moins de 10 ans.

**Tableau clinique des maladies liées aux virus pathogènes**

Espèces	Sérotypes	Maladie provoquée
Virus Poliomyélique	3	Paralysie, méningite, fièvre, poliomyélite.
Virus Coxsackie A	23	Méningite, infection respiratoire, herpangine.
Virus Coxsackie B	6	Myocardite, éruption cutanée, fièvre, méningite, infection respiratoire, pleurodynie.
Virus Echo	32	Méningite, infection respiratoire, éruption cutanée, fièvre, diarrhée.
Entérovirus 68 à 71	4	Méningite, encéphalite, atteinte des voies respiratoires, conjonctivite hémorragique.

### **Réservoir**

---

Les enfants représentent le principal réservoir de virus et vecteurs de transmission.

### **Dose infectieuse**

---

La dose minimale infectieuse (DMI) est variable selon les sérotypes mais il existe un consensus pour admettre que la DMI est inférieure à 50 et de l'ordre de 10 à 15 particules infectieuses (Coxsackievirus : moins de 18 unités infectieuses par inhalation, Echovirus : 17 germes).

### **Prophylaxie**

---

- Vaccination pour les Poliovirus :
  - Vaccin atténué (voie orale)
  - Vaccin inactivé (voie parentérale)
- Pas de vaccination pour les autres Entérovirus.

### **REFERENCES**

---

- ✓ Fiche ADEME, Les agents biologiques d'intérêt sanitaire des boues d'épuration urbaines, 1999.
- ✓ Direction Générale de la Santé de la Population et de la Santé Publique, Santé Canada, *fiches techniques santé-sécurité-matières infectieuses*, <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgsp/msds-ftss/msds44f.html>, <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgsp/msds-ftss/msds56f.html>, <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgsp/msds-ftss/msds60f.html>.
- ✓ Brouillard, Sélection des agents biologiques prioritaires à prendre en compte dans l'évaluation des risques liés au retour au sol des déchets organiques d'origine urbaine en France métropolitaine et dans les DOM-TOM. Tome 1 et tome 2. Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP, Fiche n°12, 2003, [http://www.ensp.fr/archives/memoire/listes\\_2004/igs\\_2004.htm](http://www.ensp.fr/archives/memoire/listes_2004/igs_2004.htm)

---

## **Salmonelle**

---

### **Dénomination**

---

- NOM SCIENTIFIQUE : *Salmonella* spp. (à l'exception de *S. typhi*, *S. choleraesuis* et *S. paratyphi*)
- GROUPE : Bacilles à Gram négatif mobile
- FAMILLE : *Enterobacteriaceae*
- GENRE : *Salmonella*
- ESPECE TYPE : *Salmonella enterica*

### **Caractéristiques**

---

Sur la base d'études génomiques récentes, le genre *Salmonella* ne comporte qu'une seule espèce *Salmonella enterica* qui comprend 7 sous-espèces dont la principale est *Salmonella enterica sub species enterica* qui représente 99 % des *Salmonella* impliquées en pratique médicale avec plus de 2400 sérotypes (caractérisation des antigènes somatiques et flagellaires).

Parmi les sérotypes de la sous-espèce *enterica* on distingue :

- des sérotypes strictement humains : par ex. Typhi, Paratyphi A.
- des sérotypes strictement animaux : par ex. Abortus-ovis (chez les ovins); Gallinarum-Pullorum (volaille).
- des sérotypes ubiquistes (la plupart des sérotypes) : l'exemple type est *Typhimurium* ou *Enteritidis* ; ces groupes sont actuellement les plus importants.

### **Mode de contamination**

---

Ingestion

### **Pathogénicité**

---

Les salmonelles non typhiques sont responsables de salmonelloses à forme digestive (syndrome gastro-entérique). Les signes cliniques de la gastro-entérite aiguë surviennent entre 8 et 48 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. Il s'agit la plupart du temps de vomissements, douleurs abdominales, diarrhées et souvent de fièvre. Les souches responsables sont des sérotypes comme *Salmonella* ser. Typhimurium ou ser. Enteritidis.

Certains individus peuvent rester porteurs sains pendant plusieurs mois.

Les décès sont rares, sauf chez les très jeunes sujets et chez les personnes très âgées ou affaiblies ou immunodéprimées.

### **Populations sensibles**

---

Jeunes enfants, personnes âgées, immunodéprimés.

### **Réservoirs**

---

Ce sont des microorganismes retrouvés dans le tube digestif de l'homme et de nombreux animaux (animaux domestiques et sauvages - volaille - bétail - rongeurs ; certaines souches sont associées à un réservoir animal particulier). La salmonellose est une zoonose.

### **Dose infectieuse**

---

La Dose Minimale Infectante (DMI) varie selon de nombreux facteurs dont la nature de la souche bactérienne.

Les études expérimentales font état de la nécessité d'ingérer des quantités de cellules atteignant  $10^5$ - $10^7$  bactéries pour initier une infection ; d'autres données obtenues lors de toxi-infection alimentaires indiquent des quantités comprises entre  $10^1$  et  $10^{11}$  cellules.

### **Traitement, vaccin**

---

Antibiothérapie réservée aux sujets à risque.

### **REFERENCES**

---

- ✓ Fiche ADEME, Les agents biologiques d'intérêt sanitaire des boues d'épuration urbaines, 1999.
- ✓ Brouillard, Sélection des agents biologiques prioritaires à prendre en compte dans l'évaluation des risques liés au retour au sol des déchets organiques d'origine urbaine en France métropolitaine et dans les DOM-TOM. Tome 1 et tome 2. Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP, Fiche n°8, 2003, [http://www.ensp.fr/archives/memoire/listes\\_2004/igs\\_2004.htm](http://www.ensp.fr/archives/memoire/listes_2004/igs_2004.htm)
- ✓ Fiche AFSSA Description des dangers microbiologiques : *Salmonella spp.*, juin 2002, <http://www.afssa.fr/ftp/afssa/fiches/mic/index.htm>
- ✓ Direction Générale de la Santé de la Population et de la Santé Publique, Santé Canada, *fiches techniques santé-sécurité-matières infectieuses*, <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dqsp/msds-ftss/msds135f.html> , mai 2001

---

---

## ***Escherichia coli O157 :H7***

---

---

### ***Dénomination***

---

- GROUPE : Bacilles à Gram négatif, mobile, aérobie
- FAMILLE : *Enterobacteriaceae*
- GENRE : *Escherichia*.
- ESPECE TYPE : *E. coli* entéro-hémorragique (*EHEC*) dont *E. coli* O157 : H7 est le principal sérotype

### ***Caractéristiques***

---

Les souches dites VTEC sont les souches d'*E coli* ayant le gène *stx* codant pour les shiga-like toxines ou vérotoxines.

### ***Mode de contamination***

---

Ingestion

### ***Pathogénicité***

---

Colite hémorragique, affection intestinale accompagnée de crampes et de douleurs abdominales; diarrhée liquide d'abord et sanguinolente ensuite; faible fièvre; dure environ 8 jours; de 5 à 10 % des sujets atteints de colite hémorragique peuvent développer un syndrome hémolytique et urémique (SHU) -association d'une anémie hémolytique et d'une insuffisance rénale-.

### ***Populations sensibles***

---

Jeunes enfants (moins de 5 ans) et personnes âgées.

### ***Réservoir***

---

Sujets infectés, animaux (principalement bovins et ovins). La maladie est une zoonose.

### ***Dose infectieuse***

---

La dose infectieuse semble faible, peut être semblable à celle de *Shigella spp.* : 10 organismes par ingestion.

### ***Traitement***

---

Aucun recommandé ; la plupart des individus se rétablissent sans antibiotiques ou traitement spécifique en 5 à 10 jours.

**REFERENCES**

---

- ✓ Direction Générale de la Santé de la Population et de la Santé Publique, Santé Canada, *fiches techniques santé-sécurité-matières infectieuses*, <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp/msds-ftss/msds63f.html> , septembre 2001.
- ✓ Fiche AFSSA Description des dangers microbiologiques : *E. coli* entéro-hémorragique (EHEC) *Novembre 2001*, <http://www.afssa.fr/ftp/afssa/fiches/mic/index.htm>
- ✓ Brouillard, Sélection des agents biologiques prioritaires à prendre en compte dans l'évaluation des risques liés au retour au sol des déchets organiques d'origine urbaine en France métropolitaine et dans les DOM-TOM. Tome 1 et tome 2. Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP, Fiche n°4 2003, [http://www.ensp.fr/archives/memoire/listes\\_2004/igs\\_2004.htm](http://www.ensp.fr/archives/memoire/listes_2004/igs_2004.htm)

---

---

## ***Cryptosporidium parvum***

---

---

### **Dénomination**

GROUPE : Protozoaires - Sporozoaires

FAMILLE : Coccidies

GENRE : *Cryptosporidium*

ESPECE TYPE : *Cryptosporidium parvum* (20 espèces ont été décrites mais seulement 8 sont généralement reconnues)

### **Caractéristiques**

La cryptosporidiose est due à un parasite unicellulaire essentiellement localisé au niveau de l'épithélium digestif des hôtes vertébrés.

*Cryptosporidium sp.* présente un cycle monoxène (les cycles asexués et sexués s'effectuent à l'intérieur d'un seul hôte). Les différents stades intracellulaires se développent dans la bordure en brosse des cellules épithéliales intestinales, dans des vacuoles parasitophores. Chez un hôte infecté, la multiplication asexuée conduit à une multiplication rapide du parasite dans l'épithélium digestif et à son altération. La reproduction sexuée conduit à la formation d'oocystes sporulés (forme infectante) éliminés dans les selles ; ces derniers mesurent de 4,8 à 5 µm et contiennent 4 sporozoïtes et un corps résiduel.

La durée du cycle varie de 48 h à 10-14 j selon l'hôte; l'incubation chez l'homme est estimée à 5-21 j.

Dix génotypes de *C. parvum* ont été identifiés chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages dont 4 sont infectieux pour l'homme (génotype I et II principalement et génotype du porc et du chien).

### **Mode de contamination**

Ingestion

### **Pathogénicité**

Le principal symptôme est une diarrhée aqueuse profuse mais l'infection à *Cryptosporidium spp.* cause également des crampes, douleurs abdominales, une perte de poids, une flatulence et un malaise et dans certains cas, des nausées, vomissements, une faible fièvre et des myalgies.

L'évolution est sous la dépendance du statut immunitaire.

#### **Chez l'immuno-compétent :**

La cryptosporidiose peut être asymptomatique ou provoquer une gastro-entérite banale. La durée de la diarrhée est de 3 à 12 jours en moyenne et la guérison est spontanée. Toutefois, un patient apparemment guéri peut continuer à excréter des oocystes de *Cryptosporidium spp.* pendant plusieurs semaines.

#### **Chez l'immuno-déprimé :**

La cryptosporidiose concerne essentiellement les patients infectés par le VIH.

Une diarrhée chronique peut persister pendant de longues périodes et se compliquer d'une atteinte des voies biliaires, d'une déshydratation sévère et conduire à un état cachectique. Des localisations pulmonaires ont été signalées chez les malades immunodéprimés.

### ***Populations sensibles***

---

Enfants de moins de 2 ans et immunodéprimés.

### ***Réservoir***

---

Pour *C. parvum*, il s'agit principalement des jeunes bovins, ovins et caprins pour le génotype II et de l'homme pour le génotype I. De nombreux vertébrés sauvages et domestiques sont porteurs d'autres génotypes de *C. parvum* et d'autres espèces de *Cryptosporidium*. Le réservoir essentiel est l'homme, comme le montre les grandes épidémies citadines, souvent par le biais de l'eau de boisson.

### ***Dose infectieuse***

---

La dose infectante 50 % (ID50) pour l'adulte immunocompétent varie de moins de 10 à plus de 1 000 oocystes en fonction de la souche.

Elle est estimée à 132 organismes (N Engl J Med 1995, 332 : 855-859) d'après Santé Canada (2002).

### ***Traitement, vaccin***

---

Un traitement de soutien et une réhydratation sont administrés chez les sujets immunocompétents.

Aucune prophylaxie spécifique ou vaccination recommandée.

### ***REFERENCES***

---

- ✓ Bibliographie de la fiche ADEME, Les agents biologiques d'intérêt sanitaire des boues d'épuration urbaines, 1999
- ✓ Direction Générale de la Santé de la Population et de la Santé Publique, Santé Canada, *fiche technique santé-sécurité-matières infectieuses*, <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspssp/msds-ftss/msds48f.html> , août 2002
- ✓ Brouillard, Sélection des agents biologiques prioritaires à prendre en compte dans l'évaluation des risques liés au retour au sol des déchets organiques d'origine urbaine en France métropolitaine et dans les DOM-TOM. Tome 1 et tome 2. Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP, Fiche n°15 2003, [http://www.ensp.fr/archives/memoire/listes\\_2004/igs\\_2004.htm](http://www.ensp.fr/archives/memoire/listes_2004/igs_2004.htm)
- ✓ Fiche AFSSA Description des dangers microbiologiques : *Cryptosporidium spp.* Novembre 2001, <http://www.afssa.fr/ftp/afssa/fiches/mic/index.htm>
- ✓ AFSSA (2002). Rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : évaluation scientifique des risques liés à *Cryptosporidium spp.*

# **Annexe B**

**Evaluation quantitative des risques  
sanitaires pour :**

***Entérovirus, Salmonella non typhi,  
E. coli O157 : H7,  
Cryptosporidium parvum et prion***



## TABLE DES MATIERES

<b>1. INTRODUCTION .....</b>	<b>5</b>
<b>2. EVALUATION DES RISQUES PATHOGÈNES POUR LES BOUES LIQUIDES NON TRAITÉES .....</b>	<b>6</b>
2.1. Pathogènes d'intérêt sanitaire .....	6
2.1.1. Evaluation des risques : bibliographie .....	7
2.1.2. Application /discussion .....	9
2.1.3. Conclusion .....	17
2.2. Contamination des boues .....	17
2.2.1. Méthode .....	17
2.2.2. Résultats .....	17
2.2.3. Synthèse et discussion .....	21
2.3. Caractérisation des dangers .....	22
2.3.1. Méthode .....	22
2.3.2. Résultats .....	22
2.3.3. Discussion .....	28
2.4. Evaluation des expositions .....	30
2.4.1. Bibliographie .....	30
2.4.2. Méthode .....	32
2.4.3. Résultats .....	41
2.4.4. Discussion .....	42
2.5. Quantification du risque .....	43
2.5.1. Méthode .....	43
2.5.2. Résultats .....	43
2.5.3. Synthèse et discussion .....	48
2.5.4. Conclusion .....	53
<b>3. EVALUATION DES RISQUES LIÉS À LA PRÉSENCE DE PRIONS DANS LES BOUES D'ABATTOIRS DE BOVINS .....</b>	<b>54</b>
<b>4. RÉFÉRENCES .....</b>	<b>58</b>

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : principaux pathogènes d'intérêt sanitaire dans les boues urbaines (USEPA 1999). .....	6
Tableau 2 : agents pathogènes sélectionnés pour une évaluation des risques liés à des boues urbaines (UK WIR 2003 ; WERF 2003 ; Brouillard 2003). .....	8
Tableau 3 : agents pathogènes d'intérêt sanitaire dans les boues d'abattoirs (Deglin 2002; Pompée 2003). .....	9
Tableau 4 : agents biologiques d'intérêt sanitaire dans les boues d'épuration. ....	12
Tableau 5 : agents pathogènes sélectionnés sur des critères de faisabilité de l'évaluation des risques. ....	13
Tableau 6: concentrations dans les boues utilisées pour les calculs de risques d'infection aux 4 pathogènes d'intérêt sanitaire sélectionnés. ....	21
Tableau 7 : facteurs de variabilité de la pathogénicité des agents biologiques.....	23
Tableau 8 : relations dose-réponse disponibles pour les Entérovirus. ....	25
Tableau 9 : relations dose-réponse disponibles pour les salmonelles. ....	26
Tableau 10 : relations dose-réponse disponibles pour <i>E. Coli</i> O157 : H7. ....	27
Tableau 11 : relations dose-réponse disponibles pour <i>Cryptosporidium</i> . ....	28
Tableau 12 : survie des Salmonelles sur divers végétaux. ....	36
Tableau 13 : paramètres de l'exposition. ....	38
Tableau 14 : valeurs des paramètres nécessaires au calcul des concentrations dans les végétaux dûs au dépôt atmosphérique. ....	40
Tableau 15 : dose journalière ingérée (pathogènes/jour) par l'agriculteur pour les boues liquides non traitées. ....	41
Tableau 16 : dose journalière ingérée (pathogènes/jour) par le riverain (dépôt atmosphérique) pour les boues liquides non traitées.....	42
Tableau 17 : dose journalière ingérée (pathogènes/jour) par le riverain (érosion) pour les boues liquides non traitées. ....	42
Tableau 18 : risque d'infection de l'agriculteur pour les Entérovirus. ....	44
Tableau 19 : risque d'infection journalier et pour 30 jours d'exposition répétée du riverain pour les Entérovirus (régime agricole). ....	44
Tableau 20 : risque d'infection de l'agriculteur pour les salmonelles non typhi. ....	45
Tableau 21 : risque d'infection journalier et pour 30 jours d'exposition répétée du riverain pour <i>Salmonella spp.</i> (régime agricole). ....	45
Tableau 22 : risque d'infection de l'agriculteur pour <i>E coli</i> O157 : H7. ....	46
Tableau 23 : risque d'infection journalier et pour 30 jours d'exposition répétée du riverain pour <i>E. coli</i> O157 : H7 (régime alimentaire agricole). ....	46
Tableau 24 : risque d'infection de l'agriculteur pour <i>Cryptosporidium parvum</i> . ....	47

Tableau 25 : risque d'infection journalier et pour 30 jours d'exposition répétée du riverain pour <i>Cryptosporidium parvum</i> (régime agricole). .....	47
Tableau 26 : synthèse des probabilités d'avoir au moins une infection sur la durée d'exposition. ....	48
Tableau 27 : impact de la concentration des Entérovirus dans les boues sur les niveaux de risque d'infection de l'agriculteur 1a. ....	49
Tableau 28 : impact de la relation dose-réponse (valeurs hautes) sur les résultats de risque d'infection journalier de l'agriculteur 1a par les Entérovirus. ....	50
Tableau 29 : impact de la relation dose-réponse (valeurs hautes) sur les résultats de risque d'infection journalier de l'agriculteur 1a par <i>Salmonella non typhi</i> . ....	50
Tableau 30 : impact de la quantité de poussières ingérées par l'agriculteur 1a sur les résultats de risque d'infection journalier. ....	51
Tableau 31 : quantités auto-consommées (g/j) d'après CIBLEX (ADEME, 2003). ....	52
Tableau 32 : impact de la prise en compte du régime alimentaire non agricole sur les résultats de risques d'infection, scénario 2. ....	52
Tableau 33 : impact de la prise en compte du régime alimentaire non agricole sur les résultats de risques d'infection, scénario 3. ....	52

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation d'une concentration en <i>E. Coli</i> O157:H7 dans les boues d'abattoirs de ruminants. ....	19
Figure 2 : Schéma de principe de l'évaluation de l'exposition aux pathogènes contenus dans les boues .....	30
Figure 3 : scénarios d'exposition retenus pour l'évaluation des risques pathogènes. ....	35
Figure 4 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation de la concentration du prion dans les boues françaises produites par des abattoirs de bovins. ....	54
Figure 5 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation du risque d'infection lié au prion dans les boues pour l'agriculteur. ....	55
Figure 6 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation du risque d'infection lié au prion dans les boues pour le riverain consommant des pommes de terres provenant de la parcelle amendée. ....	56
Figure 7 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation du risque d'infection lié au prion dans les boues pour le riverain consommant des végétaux contaminés par retombées des aérosols des boues. ....	56
Figure 8 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation du risque d'infection lié au prion dans les boues pour le riverain consommant des végétaux racines contaminés par érosion de la parcelle amendée. ....	57



## 1. INTRODUCTION

---

Cette annexe présente les résultats de l'application de l'évaluation quantitative des risques biologiques au contexte d'épandage des boues pour 4 agents pathogènes (Entérovirus, Salmonella non typhi, *E. coli* O157 : H7 et *Cryptosporidium parvum*) et pour le prion.

Sans référence méthodologique particulière définie au niveau national, la démarche suivie est celle établie pour les substances chimiques (identification des dangers, évaluations des relations dose-réponse, évaluation des expositions et caractérisation des risques) adaptée grâce à plusieurs études qui constituent autant d'essais d'évaluation du risque biologique.

Cette évaluation s'appuie sur les connaissances du moment avec toutes les incertitudes que comporte le monde complexe du vivant.

Par ailleurs, l'application de l'évaluation de manière générique au niveau national nécessite l'utilisation d'hypothèses de travail sur les scénarios d'exposition des populations dont le réalisme peut être remis en cause du fait de la réglementation existante et suivant les conditions locales.

Ce travail constitue donc une étude de cas dont les résultats visent à donner un ordre de grandeur du risque pathogène attendu lors de l'épandage des boues en l'état actuel des connaissances. En aucun cas, il ne fournit de résultats directement vérifiables étant donné le cadre multifactoriel de l'évaluation.

En ce qui concerne les risques liés à l'épandage de boues d'abattoirs de bovins, bien que l'endémie d'ESB en France ait notablement chuté (1/40 000 bovin détecté positif à l'abattoir), que la réglementation se soit renforcée (notamment par la mise en place d'un tamisage des MRS) et que les bonnes pratiques à l'abattoirs se soient améliorées, l'actualité de cette thématique de santé publique a justifié la présentation d'une évaluation des risques sanitaires simplifiée en l'état actuel des connaissances.

## 2. EVALUATION DES RISQUES PATHOGENES POUR LES BOUES LIQUIDES NON TRAITEES

### 2.1. PATHOGENES D'INTERET SANITAIRE

Les principaux agents biologiques qui ont été considérés pour établir la réglementation américaine (Part 503) en 1993 sur l'épandage des boues d'épuration sont présentés dans le tableau suivant.

Bactéries	Virus entériques	Protozoaires	Helminthes
<b><i>Salmonella sp.</i></b>	<b>Virus de l'hépatite A</b>	<b><i>Cryptosporidium</i></b>	<b><i>Ascaris lumbricoides</i></b>
<b><i>Shigella sp.</i></b>	<b><i>Adenovirus</i></b>	<b><i>Entamoeba histolytica</i></b>	<i>Ascaris suum</i>
<b><i>Yersinia sp.</i></b>	<b><i>Calicivirus</i></b>	<b><i>Giardia lamblia</i></b>	<b><i>Trichuris trichura</i></b>
<b><i>Vibrio cholerae</i></b>	<b><i>Rotavirus</i></b>	<i>Balantidium coli</i>	<b><i>Toxocara canis</i></b>
<b><i>Campylobacter jejuni</i></b>	<b>Enterovirus :</b> <i>Poliovirus</i> <i>Coxsackievirus</i> <i>Echovirus</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<b><i>Taenia saginata</i></b>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Reovirus</i>		<i>Taenia solium</i>
	<b><i>Astrovirus</i></b>		<i>Necator americanus</i>
			<b><i>Hymenolepis nana</i></b>

Tableau 1 : principaux pathogènes d'intérêt sanitaire dans les boues urbaines (USEPA 1999).

En gras, les germes d'intérêt sanitaire proposés par l'ADEME (ADEME 1999). On note que quelques agents biologiques supplémentaires ont été listés par l'ADEME : *Listeria sp*, *Mycobacterium spp.* et *Staphylococcus spp.*

En France, les agents pathogènes suivis dans les boues hygiénisées sont les Enterovirus, les salmonelles et les œufs d'helminthes viables (arrêté du 8 janvier 1998).

Le National Research Council américain (NRC 2002) a réexaminé les pathogènes pris en compte dans l'actuelle réglementation américaine (Entérovirus, helminthes et salmonelles) à partir de l'application de 4 critères à une liste des principaux pathogènes d'intérêt dans les boues (US EPA, 1999) :

- Disponibilité d'un test de viabilité fiable,
- Agent biologique responsable de maladies d'origine hydrique : les pathogènes sélectionnés doivent être présents dans les eaux usées et capables d'être transmis via l'exposition aux boues,
- Données sur la probabilité de survie dans les boues traitées,
- Données de survie dans l'environnement.

Selon ces critères, les agents qui méritent une analyse, en plus des agents classiquement suivis (salmonelles, Entérovirus et helminthes), sont : Adénovirus 40, Astrovirus, virus de l'hépatite A, Rotavirus et E Coli O157 :H7.

Les éléments de discussion sont les suivants :

Le NRC note que les Calicivirus (dont le Norwalk virus) sont des agents importants mais les méthodes pour analyser leur viabilité ne sont pas disponibles.

Les protozoaires n'ont pas été retenus, d'une part du fait de leur faible survie aux traitements thermiques et d'autre part du fait que les méthodes pour analyser la viabilité n'ont pas été jugées disponibles.

Les *Legionella spp.* n'ont pas été retenues car les méthodes de détection sont jugées peu efficaces, difficiles à utiliser et coûteuses.

Les *Listeria* remplissent 2 critères (survie dans les boues et dans l'environnement) mais le NRC a jugé qu'il n'existait pas de méthode d'étude de leur viabilité fiable ; par ailleurs aucune épidémie d'origine hydrique n'est rapportée dans la littérature.

*Mycobacterium* remplit chacun des 4 critères définis par le NRC mais ne fait pas partie de la liste proposée, sans explication.

### 2.1.1. EVALUATION DES RISQUES : BIBLIOGRAPHIE

Différents travaux ont été réalisés pour sélectionner les agents pathogènes qui seraient susceptibles de faire l'objet d'une évaluation des risques sanitaires compte tenu de différents critères proposés par les auteurs. Ils sont présentés ci-dessous.

#### 2.1.1.1. BOUES URBAINES

##### 2.1.1.1.1. Etats-Unis

Trois études préliminaires d'évaluation des risques sanitaires liés à l'épandage des boues d'épuration urbaines ont été menées par l'US EPA au début des années 1990 (USEPA 1991; USEPA 1991; USEPA 1992). Aucun pathogène spécifique n'a été étudié, la démarche consistant à fixer des jeux de valeurs pour de nombreux paramètres de l'évaluation de l'exposition et à réaliser plusieurs simulations pour déterminer une probabilité d'infection.

Le WERF -Water Environment Research Foundation- (2003) a développé, dans le cadre d'un co-financement de l'US EPA, un modèle dynamique d'évaluation des risques sanitaires liés à l'utilisation des boues qui prend en compte les spécificités du processus infectieux à savoir la transmission secondaire et l'immunité. Des critères ont été établis pour la sélection de pathogènes représentatifs : (1) données de contamination dans les boues, (2) existence d'une relation dose-réponse, (3) pathogène d'intérêt dans les boues.

A partir de ces critères, la liste des agents considérés comprenait les Entérovirus, les salmonelles et *Ascaris lumbricoides*. Les **Enterovirus** pour lesquels il y avait beaucoup plus de données pour la modélisation que les 2 autres microorganismes ont été sélectionnés.

##### 2.1.1.1.2. Royaume-Uni

La démarche proposée par Gale (2003) pour estimer le nombre de pathogènes sur les cultures racinaires après récolte sur parcelle amendée a été appliquée

pour évaluer les risques sanitaires liés à l'épandage agricole des boues urbaines traitées par digestion anaérobie mésophile (UK WIR, 2003). Ce travail vient d'être publié (Gale 2005).

Sept pathogènes ont été étudiés : les **salmonelles**, ***Listeria monocytogenes***, les **campylobacters**, ***Cryptosporidium parvum***, ***E. coli* O157**, les ***Giardia*** (pathogène émergent) et les **virus entériques**.

#### 2.1.1.1.3. France

En France, le risque lié au retour au sol des déchets organiques d'origine urbaine a fait l'objet d'un mémoire d'élève ingénieur du génie sanitaire (Ecole nationale de la Santé Publique, Rennes) (Brouillard 2003). A partir d'un inventaire d'agents pathogènes susceptibles de se retrouver dans les déchets d'origine urbaine, Brouillard a appliqué 4 critères pour apprécier la plausibilité de contamination de l'homme via le retour au sol des déchets en France métropolitaine et dans les DOM-TOM :

- Probabilité de présence des pathogènes dans les déchets,
- Probabilité de survie dans l'environnement,
- Compatibilité de la voie d'exposition,
- Niveau d'incertitude des données.

Aucun virus, champignon ou levure n'a été sélectionné par Brouillard. Pour les virus, les capacités de survie dans l'environnement ont été jugées limitées. Les levures et les champignons, qui se développent au cours des traitements de déchets, étaient en dehors du champ de l'étude qui visait à proposer un mode de sélection des micro-organismes présents dans les déchets.

Dans le cadre de l'épandage de boues liquides, les 4 agents pathogènes jugés prioritaires par Brouillard dans une évaluation du risque sanitaire (effet sur la santé humaine, existence d'une relation dose-effet et mesures dans les boues) sont : ***Ascaris*, *Cryptosporidium*, *Giardia* et *Salmonella***.

#### 2.1.1.1.4. Tableau de synthèse

Les résultats de la sélection des études présentées précédemment pour les boues urbaines sont synthétisés dans le tableau 2.

Agent pathogène sélectionné		UK WIR 2003	WERF 2003	Brouillard 2003
Virus	Entérovirus	X	X	
Bactéries	<i>E. coli</i> O157 :H7	X		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	X		
	<i>Salmonella</i> sp. ( <i>enteritidis</i> et <i>typhimurium</i> )	X	X	X
	<i>Campylobacter jejuni</i> et <i>C. coli</i>	X		
Protozoaires	<i>Giardia lamblia</i>	X		X
	<i>Cryptosporidium parvum</i>	X		X
Helminthes	<i>Ascaris</i> sp.		X	X

Tableau 2 : agents pathogènes sélectionnés pour une évaluation des risques liés à des boues urbaines (UK WIR 2003 ; WERF 2003 ; Brouillard 2003).

### 2.1.1.2. BOUES INDUSTRIELLES

Deux mémoires d'élèves ingénieurs du génie sanitaire (Ecole nationale de la Santé Publique, Rennes) ont concerné la sélection d'agents biologiques dans le cadre de l'évaluation des risques sanitaires lié à l'épandage de boues d'abattoirs (Deglin 2002; Pompée 2003).

Les critères de sélection des agents biologiques d'intérêt sont les suivants :

- Agents de zoonoses ;
- Prévalence de ces germes dans les boues ;
- Elimination due aux traitements des boues ;
- Survie dans l'environnement ;
- Mode de transmission par ingestion ;
- Pathogénicité des agents et gravité des maladies induites ;
- Existence ou non d'un vaccin ou d'un traitement curatif ;
- Possibilité d'une contamination inter-humaine ;
- Existence de relations dose/réponse.

Les résultats de cette sélection sont présentés dans le tableau 3.

Agent pathogène	Animal
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Ruminants, porcs
<i>Salmonella</i> sp.	Ruminants
<i>Salmonella thyphimurium</i> et <i>S. enteritidis</i>	Porcs et volailles
<i>Cryptosporidium</i> spp.	Ruminants, volailles
<i>Campylobacter jejuni</i> et <i>C. coli</i>	Porcs et volailles
<i>Clostridium botulinum</i> et <i>C. perfringens</i>	Porcs et volailles, ruminants
<i>Listeria monocytogenes</i>	Volailles
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Porcs
<i>Prion</i>	Ruminants

Tableau 3 : agents pathogènes d'intérêt sanitaire dans les boues d'abattoirs (Deglin 2002; Pompée 2003).

Les virus n'ont pas été pris en compte à cause de leur spécificité d'hôte et leur résistance modérée dans l'environnement (Pompée 2003).

Les légionelles sont des pathogènes d'intérêt sanitaire récents mis en évidence dans des cas particuliers liés à des boues d'origine industrielle. Cependant, peu d'études sont disponibles à ce jour concernant la contamination des boues.

### 2.1.2. APPLICATION /DISCUSSION

#### 2.1.2.1. IDENTIFICATION DE CRITERES DE SELECTION DES PATHOGENES D'INTERET

Le choix des agents biologiques susceptibles de faire l'objet d'une évaluation du risque sanitaire résulte de l'application d'un certain nombre de critères de sélection relevant :

◆ de la pertinence :

- présence des pathogènes rapportée dans les eaux usées ou dans les boues, Environ 80 agents pathogènes ont été identifiées dans les boues (Dumontet 2001).

- résistance aux traitements des boues,

Il n'existe des données sur la résistance aux traitements des boues que pour un nombre limité d'agents pathogènes : Entérovirus, Poliovirus, VHA, salmonelles, *Listeria sp.*, *Campylobacter sp.*, *Escherichia Coli* O157 : H7, *Staphylococcus aureus*, *Giardia sp.*, *Cryptosporidium spp.*, œufs d'helminthes.

En France, les boues liquides produites par les petites stations d'épuration (souvent soumises à déclaration) ne sont généralement pas traitées (sauf stockage) avant épandage.

- survie des agents pathogènes dans l'environnement,

Pour rappel, la survie des agents pathogènes dans l'environnement est très variable en fonction de la nature du sol, de la température, de l'humidité et constitue donc un critère peu discriminant.

- potentiel d'exposition des populations aux boues.

Les opérateurs sont les premiers exposés : contact cutané, inhalation d'aérosols provenant de la dispersion aérienne des boues liquides ou séchées, exposition digestive manuportée directe (contact mains-bouche) ou indirecte (aliments, cigarettes...). Toutefois, en tant que professionnels, il ne sont pas concernés par l'étude d'impact (législation du travail).

Les agriculteurs qui pratiquent l'enfouissement des boues après épandage sur leur parcelle ou le labours ultérieurement sont les deuxièmes populations exposées, principalement par inhalation/ingestion de poussières de sol.

Les populations riveraines des parcelles épandues sont théoriquement très peu exposées si la réglementation est respectée.

◆ et de la faisabilité :

- données de contamination dans les boues représentatives de la réalité française,

On dispose de peu de données françaises de contamination des boues (salmonelles, *Listeria*, *Campylobacter*, entérovirus et VHA...) ce qui limite la robustesse des connaissances et la représentativité nationale des résultats disponibles. L'absence de données de prévalence des contaminations plus précises constitue donc un frein majeur à l'application des valeurs de concentration dans les boues à la démarche de quantification des risques et à l'interprétation des résultats.

Une autre manière indirecte, également entourée d'incertitudes, consiste à utiliser une chaîne d'hypothèses pour estimer une concentration dans les boues à partir des contaminations dans les eaux usées domestiques ou les déjections animales.

- existence d'une relation dose-réponse pour quantifier le risque,

L'évaluation quantitative des risques biologiques à partir de relations dose-réponse est une approche récente qui a surtout été développée pour évaluer les risques alimentaires (WHO/FAO 2002 et 2004) ou via l'eau de boisson (AFSSA 2002).

De ce fait, il existe peu de relations dose-réponse pour la **voie ingestion** (qui ont été construites à partir de résultats d'enquêtes à la suite d'épidémies, d'expériences chez des volontaires humains ou chez l'animal) pour des milieux d'exposition (aliments, eau) toujours différents des boues d'où des incertitudes qui sont détaillées dans le chapitre 4.2.5).

A l'exception des endotoxines (la valeur de 4,5 ng/m<sup>3</sup> est proposée par (Heederick and Douwes 1997) et des coxsackievirus A21 (une relation est proposée par Haas 1999), il n'existe pas de valeur toxicologique de référence pour évaluer les risques biologiques pour la **voie inhalation** dus aux bioaérosols (ACGIH 2003). En effet, les données disponibles, et notamment les études épidémiologiques, ne permettent pas d'établir clairement des relations dose-réponse pour les bioaérosols. En ce qui concerne les coxsackievirus, n'ayant pu remonter jusqu'à l'étude source (Couch et al. 1965) ni à la méthodologie de construction par Haas, il a été décidé de ne pas étudier cette voie d'exposition par principe de transparence.

Des valeurs limites d'exposition sont proposées dans la littérature (Déléry 2003; RECORD 2003) par certains auteurs:

Bactéries Gram négatives : 10<sup>3</sup> UFC/m<sup>3</sup>

Champignons totaux : 10<sup>4</sup> avec 0,5.10<sup>3</sup>/espèce

La prise en compte des risques sanitaires par contact cutané est actuellement impossible du fait qu'il n'existe pas, en l'état des connaissances actuelles, de relations dose-réponse pour cette voie d'exposition.

⇒ **La seule voie d'exposition qui sera étudiée est donc l'ingestion.**

#### 2.1.2.2. RESULTATS

A partir de la liste des agents biologiques d'intérêt sanitaire des boues d'épuration constituée à partir des données de l'ADEME (1999) et des travaux américains (US EPA 1999, NRC 2002), les critères de faisabilité discriminants ont été appliqués :

##### **1. existence de données quantifiées de l'agent pathogène dans les boues,**

Ce critère a été appliqué à partir des données référencées dans l'étude bibliographique (chapitre 2.1.2).

##### **2. existence d'une relation dose-réponse.**

Ce critère a été appliqué à partir des données des études WERF (2003), UK WIR (2003), des études de l'AFSSA (AFSSA, 2003a ; AFSSA, 2003b; AFSSA, 2002; AFSSA, 2000b) et de compléments de recherche dans la littérature.

Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

Agent d'intérêt sanitaire	Données contamination boue	Relation Dose-Réponse
<b>Bactéries</b>		
<i>Salmonella spp.</i>	+	+
<i>E. coli</i> O157H7 vérotoxique	+	+
<i>Clostridium perfringens</i>	+	+
<i>Listeria spp.</i>	+	+
<i>Campylobacter spp.</i>	+	+
<i>Shigella spp.</i>	+	+
<i>Mycobacterium spp.</i>	+	
<i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase +)	+	
<i>Pseudomonas spp.</i>	+	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	+	
<i>Vibrio spp.</i>		+
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	
<b>Virus</b>		
<i>Enterovirus</i>	+	+
<i>Reovirus</i>	+	
virus de l'hépatite A	+	+
<i>Adénovirus</i>	+	+
<i>Rotavirus</i>		+
<i>Astrovirus</i>	+	
<i>Calicivirus</i>		
<b>Helminthes</b>		
nématodes		
<i>Ascaris</i>	+	+
<i>Necator americanus</i>	+	
<i>Toxocara canis</i>	+	
<i>Trichiurus trichiura</i>	+	
cestodes		
<i>Hymenolepis nana</i>	+	
<i>Taenia saginata</i>	+	
<b>Protozoaires</b>		
<i>Giardia lamblia</i>	+	+
<i>Cryptosporidium sp.</i>	+	+
<i>Entamoeba histolytica</i>	+	
<i>Toxoplasma gondii</i>	+	
<b>ATNC</b>		
prion		+

Tableau 4 : agents biologiques d'intérêt sanitaire dans les boues d'épuration.

Les 12 agents pathogènes répondant aux 2 critères de sélection sont présentés dans le tableau 5.

Agent d'intérêt sanitaire	Données contamination boue	Relation Dose-Réponse
<i>Salmonella spp.</i>	+	+
<i>E. coli O157H7 vérotoxique</i>	+	+
<i>Clostridium perfringens</i>	+	+
<i>Listeria spp.</i>	+	+
<i>Campylobacter spp.</i>	+	+
<i>Shigella spp.</i>	+	+
<i>Enterovirus</i>	+	+
virus de l'hépatite A	+	+
<i>Adénovirus</i>	+	+
<i>Ascaris</i>	+	+
<i>Giardia lamblia</i>	+	+
<i>Cryptosporidium sp.</i>	+	+

Tableau 5 : agents pathogènes sélectionnés sur des critères de faisabilité de l'évaluation des risques.

### 2.1.2.3. DISCUSSION

#### 2.1.2.3.1. Agents pour lesquels il n'existe pas de données de contamination

- *Vibrio spp.* : *V. cholerae* est le mieux connu (*V. vulnificus* et *V. parahaemolyticus* ont déjà été isolés des boues d'épuration d'après Dumontet et al. 2001) ; d'après les données disponibles, les survies dans les boues non traitées n'excèdent pas 14 jours ;
- *Rotavirus* : ce virus est responsable d'épidémies d'origine alimentaire et hydrique ; il a été détecté dans les eaux usées mais les données très limitées dans les boues car il n'est pas cultivable par les techniques classiques (NRC 2002) ;
- *Calicivirus* (regroupe 2 genres de virus : Norovirus et Saporovirus) : il représente une des causes majeures de gastro-entérites d'origine alimentaire et hydrique ; les données sont limitées concernant la présence et la survie de ce virus dans l'environnement, aucun test de viabilité disponible (NRC 2002) ;

Dans le cas particulier des Agents Transmissibles Non Conventionnels (ATNC) tel le prion bovin, bien que l'hypothèse de leur transmission par l'eau ait été formulée par des scientifiques anglais, il n'est pas possible à l'heure de les mesurer dans les boues.

#### 2.1.2.3.2. Agents pour lesquels il existe des données de contamination mais pas de relation dose-réponse

- *Mycobacterium spp.* : les mycobactérioses sont des zoonoses non alimentaires classées comme prioritaires (InVS 2001), la durée de vie de la bactérie dans l'environnement est de quelques jours, les données de contamination dans les boues sont limitées ;
- *Pseudomonas spp.* : bactérie naturellement présente dans l'environnement ; chez le porc, elle appartient surtout à la flore cutanée ; c'est une bactérie opportuniste ;

- *Yersinia enterocolitica* : bactérie naturellement présente dans les sols, l'eau et les végétaux ; l'homme se contamine par ingestion d'aliments souillés (lait, viandes et charcuterie...) ;
- *Aeromonas hydrophila* : c'est une bactérie ubiquitaire des milieux aquatiques ; elle est opportuniste ;
- Reovirus : une seule donnée de contamination dans une lagune ; virus d'infections respiratoires et gastroentérites, virus à ARN dont rotavirus ;
- Astrovirus : agent majeur d'épidémies de gastro-entérites chez les adultes et enfants d'âge scolaire ; détecté dans les eaux usées et plus récemment dans les boues (Chapron et al. . 2000) ;
- *Toxocara sp.* : helminthe agent de zoonose non alimentaire classée importante (InVS 2001) ; données de contamination des boues (USA cité par Brouillard) ; bonne capacité de survie dans l'environnement ; *Toxocara canis* est principalement lié à la contamination des enfants via les bacs à sable. Pour les animaux en pâture (bovins, ovins, porcins) sur sols fertilisés par des boues, le risque est quasi nul à cause de la spécificité parasitaire des divers nématodes (rongeur, chien...) (Madeline, 2003 a) ;
- *Trichuris trichiuria* : helminthe agent de trichocéphalose (prévalence 5 -14,5%) ; quelques données de contamination des boues ; bonne capacité de survie dans l'environnement ; En France, le risque sanitaire liés à l'épandage des boues résiduaires contaminées par des œufs infestants est très faible (l'indice parasitaire de l'Homme est très faible) (Madeline, 2003 a) ;
- *Taenia saginata* : parasite présent dans la liste des agents pathogènes responsables de maladies infectieuses d'origine alimentaire (InVS 2004). A l'heure actuelle, un certain nombre de parasitologues français s'accordent à considérer que le seul risque sanitaire parasitaire lié à l'épandage des boues qui serait réellement préoccupant est celui lié au vers *Taenia saginata*. En effet, la plupart des sources de contamination d'*Ascaris* et de *Taenia solium* ont disparu en France grâce à l'élevage industriel du porc. L'homme s'infecte suite à la consommation de viande de bovin (principalement le cœur) crue ou insuffisamment cuite. La prévalence de taeniasis humaine en Europe est de l'ordre de 0,02 à 1,6% d'après des données rapportées par Cabaret (2002). La prévalence de cysticercose chez le bovin ayant pâture sur une prairie amendée est considérée égale à 1% (0,4% en prévalence générale) ;
- *Necator americanus* : pathogène d'intérêt sanitaire dans les DOM-TOM ;
- *Hymenolepis nana* : la pathologie est rare dans les pays tempérés, les signes cliniques apparaissent seulement chez les enfants lors d'infestation. En France, le risque de contamination de l'Homme par *Hymenolepis nana* et *H. diminuta* est quasiment nul ;
- *Entamoeba histolytica* : c'est un pathogène d'intérêt sanitaire dans les DOM-TOM (Brouillard 2003) ;
- *Toxoplasma gondii* : le chat est l'hôte définitif ; zoonose non alimentaire classée prioritaire (InVS 2001) ; l'homme est infecté par contact avec le chat et surtout par la consommation de viande peu cuite (mouton en particulier) ; la majorité des infections sont asymptomatiques, les groupes à risque sont les immunodéprimés et les femmes enceintes qui n'ont pas déjà eu un contact antérieur avec le parasite.

#### 2.1.2.3.3. Agents non sélectionnés

Les 12 agents sélectionnés ont fait l'objet d'une analyse plus fine par les experts du groupe de travail à partir des connaissances sur les agents pathogènes, leur devenir dans les boues et des avis précédemment formulés par l'AFSSA pour certains agents.

Après discussion, le groupe a choisi de ne pas retenir les agents pathogènes suivants pour une évaluation des risques :

- *Clostridium perfringens* : c'est une bactérie Gram positif anaérobie sporulante (les formes végétatives sont rapidement tuées au contact de l'air) qui a été retenue comme indicateur d'efficacité des traitements des boues dans les travaux de l'Union européenne ; pour s'infecter, l'homme doit ingérer de la nourriture (viande et produits aviaires le plus souvent) contenant de grandes quantités de cellules végétatives (dose infectieuse d'au moins  $10^5$  UFC / g ). Ces dernières se multiplient, resporulent dans le tractus gastro-intestinal et synthétisent l'entérotoxine qui est libérée lors de la lyse bactérienne. Le choc thermique, des agents oxydants ou des conditions acides sont souvent d'excellents moyens pour favoriser réactivation des spores en cellules végétatives. Il est généralement admis que seules les souches exposées à la chaleur produisent suffisamment d'entérotoxines pour causer un empoisonnement. La contamination des boues par *C. perfringens* n'est pas suffisante et les conditions de développement dans les boues ne sont pas favorables pour entraîner une production suffisante de toxines pour empoisonner l'homme ;
- *Campylobacter jejuni/coli* : première cause d'infection intestinale bactérienne d'origine alimentaire dans les pays développés (*C. jejuni* est responsable de 76,5% des infections d'après une communication des journées scientifiques de l'InVS 2004) responsable de gastro-entérite aiguë ; il existe des données de contamination des boues (Koenraad, 1994 ; ADEME 1999) ; l'AFSSA (2003a) a émis un avis défavorable sur l'utilisation de l'unique relation dose-réponse existante (Black et al. 1988), le manque de données nuisant à la précision de la probabilité de la maladie en fonction de la dose ; dans la liste des agents pathogènes responsables de maladies infectieuses d'origine alimentaire (InVS 2004) ;
- *Shigella spp.* : bactérie Gram négatif, pathogène majeur d'épidémies d'origine hydrique (gastro-entérites : *S. flexneri* , *S. boydii* et *S. sonnei* ; dysenterie bacillaire dans les zones tropicales : *S. dysenteriae*) ; en France, 2 épidémies d'origine hydrique à *S. sonnei* (Normandie 1990 et Ain 1994) sont signalées (ADEME 1999) mais il est la plupart du temps difficile de déterminer la cause d'épidémies de shigellose, la shigelle poussant très mal sur les milieux de culture ; il existe des données de contamination dans les boues (Dumontet, 2001 ; NRC, 1996) et des relations dose-réponse (3 études humaines pour 2 souches *S. dysenteriae* et *S. flexneri* citées par Haas 1999) mais ce microorganisme est rapidement détruit dans les boues (ADEME 1999) et survit très peu dans l'environnement ;
- *Listeria spp.* : c'est un agent biologique ubiquitaire (Homme, nombreuses espèces animales, milieu extérieur : sol, eaux usées, boues, ensilage, produits laitiers...) d'importance sanitaire (gravité et prévalence de la maladie) qui résiste faiblement au traitement des boues (Garrec 2003) mais résiste bien dans

l'environnement ; aucune épidémie hydrique n'est décrite à ce jour ; bien qu'il existe des données de contamination des boues (Garrec, 2003), l'AFSSA (2000) a émis un avis défavorable sur la relation dose-réponse proposée par Buchanan et al. (1997) à partir de données épidémiologiques de listérioses déclarées (les experts ont jugé cette approche « théorique, floue et très largement discutable ») mais ce rapport n'a pas été ré-examiné depuis la parution de l'évaluation des risques publiée par l'OMS/FAO en 2004 (WHO/FAO 2004) ; par ailleurs, l'ensemble des données disponibles pour caractériser le danger lié à *Listeria monocytogenes* vient d'être examiné (McLauchlin 2004). Une grande variété d'approches mathématiques a été utilisée pour modéliser la relation dose-réponse. D'après son analyse, la relation dose-réponse est mal comprise et incertaine et les données humaines de volontaires ne sont pas disponibles. Des données expérimentales chez l'animal ou d'études in vitro existent mais représentent difficilement différents aspects de la maladie (processus d'infection, effet, hôte, exposition antécédente à la bactérie...). Les données épidémiologiques fournissent des informations sur les doses infectantes et les doses-réponses mais à cause des caractéristiques de la maladie (énorme variabilité et potentiellement très longue durée d'incubation, faible taux d'attaque...), les données sont limitées pour le calcul de la relation dose-réponse ;

- Virus de l'hépatite A : peu de données contamination dans les boues (une valeur ADEME 1999 ; résultats de la thèse de Monpoého 2001 par quantification génomique) et une seule relation dose-réponse (Haas 1999) dont la dose est exprimée par gramme de fèces d'individu infecté ; l'importance de ce virus pour les professionnels exposés aux eaux usées est contradictoire (Brugha 1998, Weldon 1997 ; Trout 2000 , Glas et al. 2001 cités par NRC 2002) ; dans la liste des agents pathogènes responsables de maladies infectieuses d'origine alimentaire (InVS 2004) ;
- Adénovirus : un des virus les plus courants et persistants détecté dans les eaux usées ; résiste à la chaleur ; détecté dans des boues de classe B et des boues digérées anaérobies ; transmis par les eaux usées et les eaux récréatives (NRC 2002) ; résistance aux techniques habituelles d'épuration des eaux usées et survie dans les milieux hydriques (ADEME 1999); connaissances très fragmentaires en terme de présence dans les boues et relation doses-réponses ;
- *Ascaris lumbricoides* : 1 à 25% des nématodes contenus dans les boues ; pratiquement disparu en France métropolitaine chez l'homme et le porc du fait des règles d'hygiène et de l'élevage industriel ; les risques sanitaires liés à l'épandage des boues résiduaires contaminées par des œufs infestants sont donc très faibles (Madeline, 2003 a) ;
- *Giardia spp.* : il existe données de contamination en germes viables (Thiriart 1998, NANCIE 2000) et une relation dose-réponse (Rose et al. 1991) mais la viabilité dans les boues semble très faible (boues biologiques liquides ou ayant subi un traitement mécanique de déshydratation ou un stockage prolongé) ou nulle (aucun kyste viable n'a été identifié dans les boues digérées anaérobies mésophiles, les boues digérées aérobies thermophiles et les boues en sortie de lagunage) d'après les travaux de Thiriart (1998) ; résiste moins bien que *Cryptosporidium* dans l'environnement ; prévalence de 3 à 16% chez les égouttiers en France, de 1 à 10% chez la population générale (études années

80) (Thiriat 1998 ) et 1-6,3% d'après ADEME 1999 ; pas d'épidémie d'origine hydrique décrite en France.

### 2.1.3. CONCLUSION

A l'issue de cette analyse, l'évaluation des risques sanitaires liés à l'épandage des boues est jugée pertinente et possible, en l'état des connaissances actuelles, pour les pathogènes suivants :

- Entérovirus,
- *Salmonella spp.*,
- *Escherichia coli* O157 : H7,
- *Cryptosporidium spp.*

En ce qui concerne l'évaluation des risques sanitaires liés à l'épandage de boues susceptibles d'être contaminées par le **prion** :

- Bien que l'endémie bovine française soit en nette diminution,
- Bien que sa présence ne soit pas avérée dans les boues d'épuration,
- Bien que la réglementation européenne impose un tamisage de 6 mm à tous les effluents d'abattoirs,
- Bien que les pratiques à l'abattoir pour le retrait de MRS se soit améliorées (aspiration moelle avant fente carcasse),

il a été décidé, en l'état actuel des préoccupations sociales sur le sujet, de retenir l'agent d'origine bovine responsable des ESST (Encéphalopathies Subaiguës Spongiformes Transmissibles) à titre d'information en appliquant la démarche anglaise d'évaluation des risques sanitaires publiée par Gale en 2001.

⇒ La démarche spécifique liée au prion est présentée dans le chapitre 4 de cette annexe.

## 2.2. CONTAMINATION DES BOUES

### 2.2.1. METHODE

Cette étape a consisté à choisir, parmi l'ensemble des données de la littérature, des données de contamination des boues en agents pathogènes représentatives au niveau national en l'état des connaissances actuelles et issues soit de mesures directes dans les boues soit de chaînes d'hypothèses reposant sur des données de contamination d'eaux usées ou de déjections animales. Ces données ont été fixées par consensus d'experts sur les agents sélectionnés à l'étape précédente.

### 2.2.2. RESULTATS

#### 2.2.2.1. ENTEROVIRUS

Dans les boues d'épuration, la recherche des virus entériques est généralement centrée sur la mise en évidence des *Enterovirus* par culture cellulaire. De ce fait on dispose essentiellement de données sur ce type de virus dans la littérature.

Monpoého (2001) a également étudié le virus de l'hépatite A (VHA) par biologie moléculaire. L'analyse de la corrélation entre titre infectieux (résultat de la culture

cellulaire) et titre génomique (résultat de la biologie moléculaire) n'est pas évidente et fait l'objet de recherches.

Le typage des *Enterovirus* dénombrés dans les boues étudiées par Monpoého (2001) montre que les virus sont sélectionnés en fonction du système cellulaire utilisé. Par exemple, sur cellules BGM (méthode de dénombrement préconisée par la réglementation française), 91% des virus sérotypés sont des Coxsackievirus. Les Echovirus (67%) sont essentiellement détectés à partir des cellules MRC-5 montrant que 2 types d'Entérovirus (Coxsackie et Echo virus) coexistent dans la boue.

Les concentrations en entérovirus dans les boues non traitées rapportées dans la littérature sont assez nombreuses (Cadiergues, 2000) mais hautement variables d'une étude à l'autre.

Monpoého (2001) a déterminé des intervalles de concentration allant de la valeur moyenne de 280 NPPUC/g MS à la valeur maximale de 901 NPPUC/g MS.

L'UK WIR (2003) a utilisé la concentration de 110 /g MS pour son évaluation des risques et le WERF (2003) mentionne des valeurs comprises entre <1 et 1600 unités infectieuses/g MS.

**On propose d'utiliser la valeur de concentration française MOYENNE d'une seule étude (Monpoého 2001) à savoir 280 NPPUC/g MS.**

#### 2.2.2.2. SALMONELLES

Une étude anglaise a identifié la présence de *Salmonella spp.* dans 87% des 176 échantillons de boues brutes de 8 stations d'épuration urbaines (Jones 1980). En moyenne, les échantillons de boues contiennent plus de 200 NPP/100 mL avec un maximum compris entre 460 et >2400 NPP /100 mL. 12% du total des isolats identifiés comme appartenant au genre *Salmonella* ont été sérotypés. Environ 41 sérotypes ont été déterminés dont 21% appartiennent au sérotype *orianienburg* et 12% au sérotype *typhimurium*.

En Ecosse (Linklater and Graham 1985), 228 isolats de Salmonelle issus d'échantillons de boues provenant de 8 stations d'épuration ont été associés à 32 sérotypes dont *S. montevideo* (11%), *S. virchow* (10%), *S. newport* (9%) et *S. panama* (8%). Aucune tendance saisonnière n'a été observée ni dans les isolats ni dans les sérotypes. Parallèlement, des échantillons d'effluents d'abattoirs reliés à ces stations ont été prélevés et sérotypés : *S. montevideo* représente 50% des isolats. L'auteur conclut que la gamme des sérotypes provenant des effluents d'abattoirs (5 sérotypes) dans les eaux usées urbaines semble peu important.

La présence de *Salmonella spp.* a été recherchée dans les boues non traitées de 8 stations d'épuration urbaines suédoises (Sahlstrom 2004). 67% des échantillons de boues non traitées contenaient des *Salmonella spp.*, 49 sérotypes ont été détectés. Une analyse par restriction enzymatique et une électrophorèse sur gel par champs pulsé des sérotypes de *Salmonella* montrent que *Salmonella* persiste dans les stations d'épuration et qu'il existe un apport continu de nouvelles souches. Certains sérotypes retrouvés dans les boues de stations ont été associés avec des cas humains de salmonelloses, tels que *S. Thyphimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Agona*, *S. Stanley* et *S. Hadar*.

L'étude française NANCIE (NANCIE 2000) a mis en évidence une concentration MAXIMALE de 4 log UFC *Salmonella spp.* /g MS dans les boues biologiques d'aération prolongée de 3 stations d'épuration. A défaut d'autre valeur disponible au niveau français, c'est cette valeur que nous retiendrons car c'est la plus récente déterminée en France.

### 2.2.2.3. *E COLI* O157 :H7

Pour *E coli* O157:H7, on ne dispose pas de données de contamination françaises dans les boues (on dispose seulement de fréquences d'isolement dans les boues d'après Vernozzy (2001).

Une chaîne d'hypothèses (figure 1) s'appuyant sur la contamination des fécès d'animaux porteurs, le nombre annuel d'animaux abattus par an et la contamination des eaux usées lors de l'abattage sera utilisée à défaut d'après la démarche utilisée par l'UK WIR (2003).

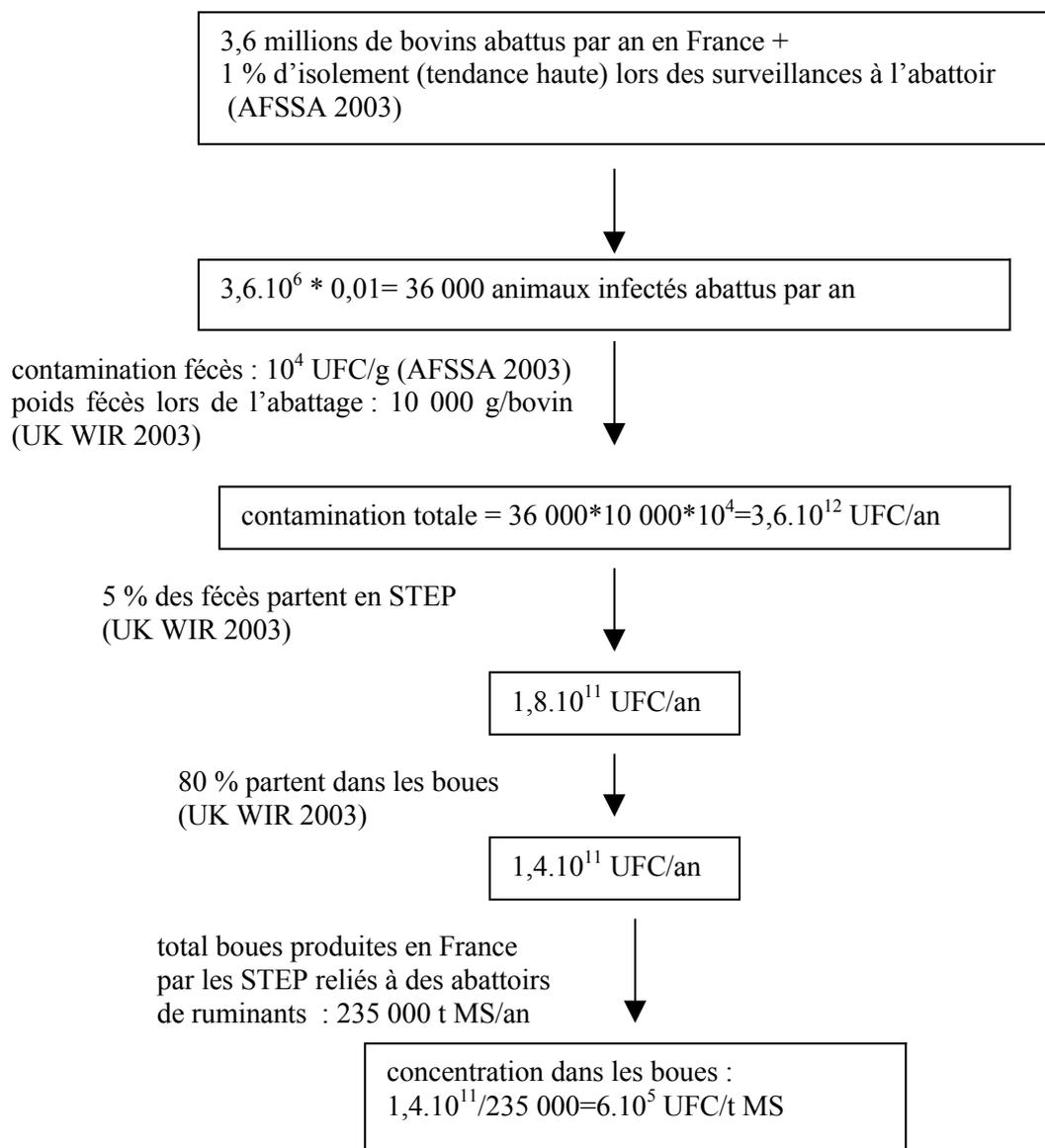


Figure 1 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation d'une concentration en *E. Coli* O157:H 7 dans les boues d'abattoirs de ruminants.

Les bovins et les ovins sont les principaux réservoirs de cet agent biologique mais il est rarement détecté chez les ovins (AFSSA, 2003b).

L'origine des hypothèses retenues vient soit de l'étude de l'AFSSA (2003a) sur les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines soit de l'évaluation des risques de l'UK WIR (2002) ; le tonnage des boues issues de STEP reliées à des abattoirs de ruminants/ovins est issu de l'étude réalisée en 2001 et intitulée «Evaluation de l'impact du projet de règlement européen établissant les règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine, Analyse économique et technique réalisée par les industries du déchet (FNADE), de l'eau (SPDE), des abattoirs (FNEAP-SNIV-FIA), de l'assainissement (FNSA), du SYPREA (Syndicat des Professionnels du Recyclage en Agriculture) ».

**Cette approche par l'utilisation d'une chaîne d'hypothèses permet d'estimer une concentration MOYENNE en *E. coli* O157 : H7 dans les boues liquides non traitées de 0,6 UFC/g MS.**

#### 2.2.2.4. CRYPTOSPORIDIUM SPP.

Les seules données trouvées dans la littérature concernant les concentrations en *Cryptosporidium parvum* dans les boues mixtes (10 échantillons mélange boue activée épaissie /boue brute dans un ratio 1:3 en poids) sont fournies par Chauret (1999) au niveau d'une station d'épuration canadienne traitant les boues par digestion anaérobie mésophile. Il fait d'état d'une concentration moyenne de 529 oocystes/100 g humide et d'un intervalle de variation de <250 à 3810 oocystes /100 g humide (sans étude de viabilité).

Rose (1997) rapporte des valeurs de la littérature pour l'eau usée de l'ordre de 15 oocystes/L en moyenne et jusqu'à 120 oocystes/L au maximum.

L'ADEME (1999) rapporte des concentrations mesurées aux Etats-Unis allant jusqu'à 5180 oocystes/L dans les eaux usées.

Schwartbrod (2002) mentionne des concentrations dans les eaux usées allant de 1 à 320 oocystes/L en Europe.

L'UK WIR (2003) a utilisé pour ses calculs de risques la concentration dans l'eau usée de 494 oocystes/L mesurée par Robertson et al. (2000).

Une étude française (Lemarchand et al. 2003) rapporte la concentration dans l'eau usée en entrée de station d'épuration de 23,4 oocystes/L.

Plus récemment, le programme Seine Aval engagé depuis 1995 et financé par le ministère de la recherche, le Conseil Régional de Haute Normandie et l'agence de l'eau Seine-Normandie a permis de mesurer une concentration moyenne de 300 oocystes/ 10 L d'eau usée au niveau de 3 stations d'épuration (p\_PEP.PROCEDE 2000).

Le rapport de l'AFSSA (2002) indique des niveaux de contamination dans les eaux usées de 3 000 à 5 000 /L en moyenne et jusqu'à 10<sup>7</sup>/L.

**En considérant un facteur de concentration de 100 dans les boues (100 L d'eau usée permet d'obtenir 1 L de boue), on obtient, à partir de l'étude Seine-Normandie, une concentration MOYENNE de 3000 oocystes/ L de boues soit 100 oocystes /g MS (avec une siccité de 3 % pour la boue liquide).**

### 2.2.3. SYNTHÈSE ET DISCUSSION

Pour évaluer les risques pathogènes liés à l'épandage des boues, il a été choisi d'utiliser des valeurs ponctuelles de la contamination des boues disponibles au niveau français (moyenne pour entérovirus, *E. coli* O157 : H7 et *Cryptosporidium spp.*, maximale pour les salmonelles) et résumées dans le tableau suivant de façon à obtenir un ordre de grandeur du risque attendu.

Pathogène étudié	Concentration dans la boue liquide non traitée
Entérovirus	280 NPPUC/ g MS
Salmonelles	10 <sup>4</sup> UFC/ g MS
<i>E. coli</i> O157 : H7	0,6 UFC/ g MS
<i>C. parvum</i>	100 oocystes / g MS

Tableau 6: concentrations dans les boues utilisées pour les calculs de risques d'infection aux 4 pathogènes d'intérêt sanitaire sélectionnés.

Ces valeurs sont représentatives :

- des boues de station d'épuration urbaine pour les Entérovirus, salmonelles et *C. parvum* ;
- des boues de station d'épuration urbaine traitant des effluents provenant d'abattoirs de bovins pour *E. coli* O157 : H7
- des boues d'abattoirs mixtes pour les salmonelles.

On ne dispose pas, en l'état des connaissances actuelles, de données sur la présence spécifique de *C. parvum* dans les boues d'abattoirs.

En ce qui concerne les boues produites par les laiteries, les quelques données disponibles (voir chapitre 3.1.2.2.2 du rapport) indiquent l'absence d'entérovirus et d'œufs d'helminthes viables et une faible contamination en salmonelles, bien inférieure à la charge des boues urbaines ou issues d'abattoirs mixtes. On ne dispose pas de données pour *C. parvum* mais comme pour les salmonelles, on peut s'attendre à des concentrations beaucoup plus faibles que dans les boues urbaines.

Pour la plupart des agents pathogènes, la distribution de la contamination des différents types de boues est mal connue en France du fait de la non obligation de mesurer les pathogènes avant épandage sauf pour les boues dites « hygiénisées ». Ainsi, on dispose de peu de données pour les entérovirus tandis que pour *E. coli* O157 :H7 et *Cryptosporidium spp.*, l'absence de données de contamination des boues en France a entraîné l'utilisation de chaînes d'hypothèses reposant sur la contamination des fèces de bovins pour *E. coli* O157 :H7 (hypothèse moyenne d'isolement du pathogène) et sur la contamination de l'eau usée en entrée de station d'épuration pour *Cryptosporidium spp.*.

Il existe donc une variabilité naturelle de la contamination des boues qui n'a pas été prise en compte dans l'évaluation dans un souci de simplification de l'exercice. A titre d'exemple, l'impact de l'utilisation de données maximales de concentration disponibles dans les boues sera étudié pour les entérovirus dans l'analyse des incertitudes (chapitre 2.5.3).

La viabilité de *Cryptosporidium sp.* dans les boues n'a pas été prise en compte et constitue un facteur de surestimation des calculs. En effet, la seule étude disponible renseignant la viabilité de ce protozoaire fait état d'une viabilité initiale de 80 % dans des boues biologiques (avant un traitement par digestion anaérobie mésophile) difficilement généralisable en l'état des connaissances actuelles.

## 2.3. CARACTERISATION DES DANGERS

### 2.3.1. METHODE

Cette étape consiste à décrire les effets sur la santé de l'homme des pathogènes étudiés et à rechercher les relations dose-réponse publiées dans la littérature pour sélectionner celle qui sera utilisée pour la quantification des risques.

Plusieurs sources de données ont été utilisées pour identifier les dangers des 4 pathogènes :

- Fiches ADEME, Les agents biologiques d'intérêt sanitaire des boues d'épuration urbaines, 1999.
- Brouillard, Sélection des agents biologiques prioritaires à prendre en compte dans l'évaluation des risques liés au retour au sol des déchets organiques d'origine urbaine en France métropolitaine et dans les DOM-TOM. Tome 1 et tome 2. Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP, 2003 [http://www.ensp.fr/archives/memoire/listes\\_2004/igs\\_2004.htm](http://www.ensp.fr/archives/memoire/listes_2004/igs_2004.htm)
- Fiches AFSSA Description des dangers microbiologiques <http://www.afssa.fr/ftp/afssa/fiches/mic/index.htm>
- Direction Générale de la Santé de la Population et de la Santé Publique, Santé Canada, *fiches techniques santé-sécurité-matières infectieuses*, <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgsp/msds-ftss/>

### 2.3.2. RESULTATS

#### 2.3.2.1. IDENTIFICATION DES DANGERS

Les données sont présentées sous forme de fiches, dans l'annexe A de la Base scientifique, pour chacun des pathogènes étudiés.

En résumé :

- Les entérovirus peuvent être responsables de pathologies très variées : méningite, infection respiratoire, myocardite, éruption cutanée, fièvre, diarrhée ;
- Les salmonelles non typhiques sont responsables de salmonelloses à forme digestive (syndrome gastro-entéritique). Les souches responsables sont des sérotypes comme *Salmonella* ser. Typhimurium ou ser. Enteritidis ;
- *E. coli* O157 :H7 est responsable d'affections intestinales caractérisées par des colites hémorragiques accompagnée de crampes et de douleurs abdominales ;
- Le principal symptôme lié à l'infection à *Cryptosporidium spp.* est la diarrhée aqueuse profuse ; l'évolution est sous la dépendance du statut immunitaire.

### 2.3.2.2. RELATIONS DOSE-REPONSE

#### 2.3.2.2.1. Généralités (Bonnard, 2001)

Pour les agents biologiques infectieux, la relation dose-effet représente le lien entre le niveau d'exposition à l'agent et la probabilité d'occurrence d'infection.

Ces relations ont pendant longtemps été décrites par des valeurs ponctuelles comme la dose minimale infectante (DMI) qui représente le nombre d'agents pathogènes nécessaires pour provoquer une pathologie (elle varie considérablement en fonction de l'agent pathogène, de son état physiologique et celui de la personne exposée).

Plus récemment, des modèles mathématiques ont été proposés (Teunis et al., 1996 : Haas, 1999) pour représenter l'ensemble de la courbe dose-effet. Ils sont construits à partir de données expérimentales chez l'animal et plus rarement chez des volontaires humains ou à partir de données épidémiologiques.

Les modèles beta-Poisson  $P = 1 - (1 + N/\beta)^{-\alpha}$  et exponentiel  $P = 1 - \exp(-N/k)$  sont le plus souvent appliqués.

P est la probabilité d'être infecté lors de l'ingestion d'une dose N de pathogènes lié à un événement.

$\alpha$  et  $\beta$  sont les paramètres du modèle *beta-Poisson* et k le paramètre du modèle exponentiel.

#### 2.3.2.2.2. Analyse des incertitudes

La prédiction de l'infection ou de la maladie résultant de l'exposition à un agent pathogène dépend de 3 facteurs (pathogène, hôte et environnement) et de leurs interactions qui vont influencer les modèles d'évaluation des risques (Coleman, 1998). Les différences entre agents infectieux sont les plus difficiles à contrôler.

Pathogène	Dose Potentiel de croissance dans le milieu d'exposition Potentiel de colonisation du système gastro-intestinal de l'hôte Virulence et pathogénicité et des pathogènes (espèce, sérotype) ...
Hôte	Statut immunitaire Physiologie Bol alimentaire Maladie préexistente Age ...
Environnement	Conditions de l'exposition Conditions expérimentales Ecosystème du milieu ...

*Tableau 7 : facteurs de variabilité de la pathogénicité des agents biologiques.*

Il existe donc différentes sources de variabilité intrinsèquement liées à une relation dose-réponse. Son utilisation a donc théoriquement une représentativité limitée aux conditions auxquelles elle se rapporte (souche et virulence du pathogène étudié, statut immunitaire et âge de la population, conditions de l'exposition etc...). Par ailleurs, les études disponibles pour établir ces relations demeurent peu nombreuses.

En pratique, il existe donc une incertitude difficilement quantifiable liée à l'utilisation d'une relation dose-réponse. Lorsque plusieurs relations sont disponibles, des choix transparents doivent être appliqués.

Les relations dose-réponse fournissent la plupart du temps des résultats chez des individus sains en terme d'infection (multiplication de l'agent pathogène chez l'hôte) et non en terme de maladie. Il est donc difficile d'extrapoler les résultats pour les populations plus sensibles. De nouveaux modèles plus complexes (comme celui de la WERF 2003) prennent en compte l'état de santé des individus. Cela implique l'utilisation d'un nombre plus important de paramètres dont la connaissance est souvent très limitée.

En outre, pour connaître la probabilité d'être malade suite à l'exposition à un agent pathogène, il est nécessaire de connaître le « taux d'attaque » dans la population étudiée qui est souvent variable d'après les expériences d'épidémies hydriques.

#### 2.3.2.2.3. Entérovirus

Le type de virus, l'état de dispersion dans la suspension virale (adsorption support, formation d'agrégats), la nature et le pH du milieu support vont influencer la relation dose-réponse. L'ensemble des valeurs proposées dans la littérature étant issu d'études d'ingestion d'aliments ou d'eau, leur utilisation et l'interprétation des résultats en découlant est très relative.

Monpoého (2001) précise que beaucoup de données concernant la dose infectieuse des virus ont été obtenues avec des virus atténués ou des souches non virulentes cultivées en laboratoire. D'autre part, la survenue d'une infection ne se traduit pas forcément par l'apparition de symptômes cliniques. Le risque d'infection est de ce fait probablement sous-estimé. D'après l'auteur, la DMI est comprise entre 1 et 10 unités infectieuses pour les virus entériques et de 5-6 particules pour le Rotavirus.

Monpoého (2001) présente plusieurs modèles (modèle exponentiel  $P = 1 - \exp(-N/k)$  et modèle  $\beta$ -Poisson  $P = 1 - (1 + N/\beta)^{-\alpha}$  avec N nombre de pathogènes) proposés dans l'article de Regli et al. (1991) qui ont été déterminés lors d'études d'ingestion d'eau contenant des virus entériques (tableau 8).

Par ailleurs, un modèle est proposé par Haas (1999) pour évaluer le risque d'infection aux virus entériques. Un modèle beta-Poisson est utilisé ( $P = 1 - (1 + N/\beta)^{-\alpha}$ ) pour déterminer la probabilité d'infection P au rotavirus et à l'échovirus 12.

Dans son évaluation, l'UK WIR (2003) reprend un modèle antérieur de Haas proposé en 1993.

Quant à la WERF (2003), il est précisé que la relation dose-réponse est espèce et sérotype-spécifique pour les entérovirus. Des recherches bibliographiques ont été effectuées pour 3 entérovirus (Coxsackie A 21, Echo 11 et Echo 12). Les études sources sont précisées et des intervalles de valeurs (bas, central, haut) des

paramètres  $\alpha$  et  $\beta$  de la fonction beta-Poisson sont fournis pour l'évaluation des risques (tableau 8).

Références	Etude source		k	$\alpha$	$\beta$
(Monpoého 2001)	Regli et al. (1991)	Echovirus 12		0,374	186,69
		Poliovirus 1			
		Poliovirus 3			
		Rotavirus		0,26	0,42
		Poliovirus 1	109,86		
(Gerba 2002)	Haas 1999	Rotavirus		0,2531	0,426
	Ward (1986))				
	Akin (1981)	Echovirus 12	78,3		
(UK WIR 2003)	(Haas, Rose et al. 1993)	Rotavirus		0,265	0,442
(WERF 2003)	Jackson, 1973 Schiff et al. 1984	Coxsackie A21, Echo 11 et Echo 12		bas : 0,126 central : 0,26 haut : 0,5	bas : 0,21 central : 0,42 haut : 0,84

Tableau 8 : relations dose-réponse disponibles pour les Entérovirus.

La relation dose-réponse utilisée pour les calculs est celle correspondant aux valeurs centrales de l'étude WERF (2003). En effet, elle est très proche de celles de Haas (1999) utilisée par Gerba (2002) et de celle de Haas (1993) utilisée par l'UK WIR (2003).

$$P(N) = 1 - (1 + N/0,42)^{-0,26}$$

#### 2.3.2.2.4. Salmonella non typhi

Haas (Haas 1999) propose une relation dose-réponse pour différentes souches pathogènes de salmonelles non typhi (à l'exclusion de *S. pullorum*) basée sur un modèle beta-Poisson appliqué à des données humaines d'ingestion d'œufs.

Wanatabe (2002) cite le modèle beta-Poisson proposée par Rose et Gerba (1991).

Un modèle dose-réponse composite pondéré de la salmonellose humaine est proposé (Latimer 2001) pour décrire l'influence de la variation de virulence des souches et de sensibilité de l'hôte sur la forme de la relation dose-réponse. Cette étude, au de-là de ses résultats mathématiques très poussés, montre que la quantification du risque biologique est très délicate puisqu'elle repose sur une relation dose-réponse qui varie suivant la prévalence et la virulence des souches étudiées et de la sensibilité de l'hôte.

L'UK WIR (2003) liste 3 modèles de relations dose-réponse et utilise celle de Teunis (1999) pour la quantification du risque, sans explication.

Une évaluation des risques liés à la présence des salmonelles non typhi dans les œufs et la volaille a été menée par l'OMS et la FAO (WHO/FAO 2002). Dans ce travail très poussé, les auteurs ont réexaminé de nombreuses sources de

données internationales sur les épidémies de salmonelloses: 20 rapports d'épidémies ont ainsi été sélectionnés et ont permis d'établir un intervalle de modèles de relation dose-réponse beta Poisson de façon à prendre en compte l'incertitude des données. Les valeurs des paramètres pour la relation dose-réponse correspondant aux valeurs attendues provenant des résultats d'enquêtes sur les épidémies sont présentés dans le tableau 9 (des valeurs correspondant aux limites basse et haute ainsi qu'aux percentiles 2,5<sup>ème</sup> et 97,5<sup>ème</sup> sont également fournies à partir de l'analyse des incertitudes). Ce travail n'a pas permis de conclure que *S. enteritidis* avait une probabilité différente des autres sérovars de provoquer une maladie.

Plus récemment, un modèle pour un mélange de 13 souches de salmonelles a été développé (Oscar 2004) qui confirme les résultats de Latimer à savoir que la présence de plusieurs souches de salmonelles influence fortement la forme de la relation dose-réponse. De ce fait, la forme sigmoïde des courbes dose-réponse obtenues à partir d'une seule souche de salmonelle ne refléterait pas précisément la relation dose-réponse dans des milieux contaminés où plusieurs souches sont naturellement présentes. Ce travail faisant intervenir un modèle probabiliste, il ne peut être utilisé de façon simple dans notre étude.

Références	Etude source	Souche	$\alpha$	$\beta$
(Haas, 1999)	Mc Cullough and Eisele, 1951	Multiples souches non typhi	0,3126	2884
(Wanatabe, Sano et al. 2002)	Rose et Gerba 1991		0,33	139,9
(UK WIR 2003)	FAO/WHO 2000	<i>Salmonella</i> non typhi	0,3136	3008
	Teunis et al. 1999	<i>S meleagridis</i>	0,89	440 000
	Coleman et Marks 2000	9 souches	0,70	3,5.10 <sup>9</sup>
(WHO/FAO 2002)	Toxi-infections alimentaires	<i>Salmonella</i> non typhi	0,1324	51,45

Tableau 9 : relations dose-réponse disponibles pour les salmonelles.

La relation dose-réponse utilisée pour les calculs est celle proposée par la FAO/WHO (2002). C'est un travail international et c'est la relation la plus récente.

$$P(N) = 1 - (1 + N/51,45)^{-0,1324}$$

#### 2.3.2.2.5. *E. coli* O157:H7

Le rapport de l'AFSSA (2003b) a analysé l'étude de Strachan (2001) qui a utilisé le modèle bêta Poisson de Crocket et al. 1996 (ingestion de *Shigella* par des volontaires humains) et les modèles proposés par Haas 2000 (bêta Poisson, ingestion d'une suspension par de jeunes lapins), Cassin 1998 (amélioration du modèle de Crocket et al.), Powell 2000 (estimation d'un modèle bêta Poisson le plus probable à partir de données humaines associées à de *Shigella* et à des EPEC -*Escherichia coli* entéropathogène-) et l'analyse de Nauta et al. (2001). Il est conclut que « sur la base des données actuellement disponibles, il est difficile de mettre en avant un modèle dose-réponse particulier. La qualité des données

microbiologiques et épidémiologiques servant à valider les modèles doit encore être améliorée ».

Une étude récente de Teunis (2004) s'appuie sur une épidémie liée à *E. Coli* O157 : H7 dans une école élémentaire au Japon en 1996 pour proposer une relation dose –réponse de type bêta Poisson jugée pertinente par les auteurs pour une évaluation quantitative des risques.

Références	Etude source	$\alpha$	$\beta$
AFSSA, 2003b	Cassin et al. 1998	0,267	$\text{Ln } \beta \sim \text{loi normale}$ ( $\mu=5,435, \sigma=2,47$ )
	Haas et al. 2000	0,49	$1,9 \cdot 10^5$
UK WIR, 2003	Crocket et al. 1996	0,16	15,04
	Powell et al. 2000	0,221	8722,46
	Teunis et al. 2004	0,05	1,001

Tableau 10 : relations dose-réponse disponibles pour *E. Coli* O157 : H7.

Il est proposé d'utiliser pour les calculs la relation dose-réponse établie par Teunis et al. (2004) à partir de données épidémiques.

$$P(N) = 1 - (1 + N/1,001)^{-0,05}$$

#### 2.3.2.2.6. *Cryptosporidium parvum* (UK WIR 2003 et AFSSA 2002)

La principale étude source a été réalisée sur des volontaires sains par ingestion (Dupont et al. 1995).

L'étude d'Okhuysen (1999) a étudié les relations dose-réponse de 3 isolats de *Cryptosporidium parvum* (TAMU, IOWA et UCP) ce qui montre une variabilité conséquente suivant les souches étudiées.

L'étude de Chappell (1999) permet de mettre en évidence la variation dans la relation dose-réponse dès lors que l'on prend en compte l'immunité acquise des individus, c'est à dire la présence d'anticorps anti-*Cryptosporidium* spécifiques dans le sérum.

L'UK WIR (2003) a utilisé la relation proposée par Dupont et al. 1995 dans son évaluation des risques. Dans son rapport sur les « infections à protozoaires liées à l'eau et aux aliments : *Cryptosporidium sp.* », les experts de l'AFSSA se sont appuyés sur le modèle exponentiel de Haas (1999) pour l'évaluation quantitative du risque pour la population immunocompétente.

Dans une étude récente (Teunis 2002), la relation dose-réponse de *Cryptosporidium parvum* est analysée en prenant en compte la variabilité entre les hôtes par l'intégration de covariables caractérisant le statut immunitaire de l'hôte. En effet, la probabilité d'infection d'un individu dépend d'un niveau préexistant en IgG. L'auteur recommande d'utiliser la distribution des niveaux anti-*Cryptosporidium* IgG du sérum dans la population générale pour améliorer l'étude de la variation de sensibilité à l'infection à *Cryptosporidium sp.* dans la population.

Références	Etude source	Souche	k
(Teunis 2002) (Haas, 1999)	Dupont, 1995	<i>Cryptosporidium parvum</i>	238
	Okhuysen, 1999	TAMU	12,8
		IOWA	125
		UCP	1492,5
	Chappell, 1999	<i>Cryptosporidium parvum</i>	10 989

Tableau 11 : relations dose-réponse disponibles pour *Cryptosporidium*.

La relation dose-réponse utilisée pour les calculs est celle de Dupont et al. (1995), elle est utilisée dans l'étude de l'AFSSA (2002) et dans l'étude de l'UKWIR (2003).

$$P(N) = 1 - \exp(-N/238)$$

### 2.3.3. DISCUSSION

Les relations dose-réponse établies dans la littérature sont basées sur des données expérimentales ou épidémiologiques spécifiques (nombre d'individus, souches, sérotypes et doses étudiés : la WERF a par exemple utilisé, dans la quantification des risques liés aux entérovirus, une relation basée sur trois études différentes sur les virus Coxsackie A 21, Echo 11 et Echo 12) et n'ont donc théoriquement qu'une représentativité limitée aux conditions auxquelles elles se rapportent.

En effet, elles dépendent d'abord de l'agent pathogène étudié (souche, sérotype, virulence) ou de la composition du milieu étudié si ce dernier contient plusieurs souches d'un même agent. Dans le cas des boues, les données de la littérature utilisées mentionnent rarement ces informations et l'hypothèse d'une similitude entre les agents pathogènes des boues et ceux qui ont servi à établir la relation dose-réponse est très forte. Nous n'avons pas aujourd'hui les connaissances suffisantes pour les valider. Par exemple, on sait maintenant grâce aux progrès en biologie moléculaire que les génotypes I et II de *Cryptosporidium parvum* sont infectieux pour l'homme.

Ensuite, le statut immunitaire (et autres facteurs de susceptibilité dépendant de notre environnement, notre alimentation etc...) et l'âge des personnes exposées conditionnent une réponse sanitaire donnée. La prise en compte de cette variabilité source d'incertitude dans l'évaluation du risque d'infection n'est pas systématiquement prise en compte dans l'établissement des relations dose-réponse. Cette démarche est plutôt récente et s'est développée grâce à l'utilisation d'approche probabiliste telle que les simulations de type Monte Carlo. En ce qui concerne les relations retenues dans cette évaluation, elles ne sont strictement valides que pour une population immunocompétente.

Enfin, les conditions de l'exposition qui vont de la présence de l'agent pathogène dans le milieu étudié (et donc ici des caractéristiques des boues qui influencent notamment la viabilité des pathogènes et leur état de dispersion dans la boue) jusqu'à l'individu exposé sont également déterminantes.

Les hypothèses suivantes sont donc posées pour l'exploitation des relations dose-réponse sélectionnées :

Même loi de distribution des pathogènes dans les boues que dans les milieux (souvent l'eau de boisson) qui ont servi à établir la relation dose-réponse ;

Transposition possible des données de l'étude source à l'ensemble des souches du pathogène contenu dans les boues d'épuration en particulier aux niveaux d'exposition observés dans les boues ;

Représentativité des individus qui ont permis à établir les relations dose-réponse à celle des populations exposées lors de l'épandage des boues.

La WERF (2003) fournit des estimations « basse, moyenne et haute » des valeurs des paramètres de la relation dose-réponse utilisée. L'impact de l'utilisation des valeurs de paramètres correspondant à la limite haute de la relation dose-réponse sera étudié dans l'analyse des incertitudes (chapitre 2.5.3)

L'évaluation des risques salmonelle de la FAO (2002) a permis d'établir une nouvelle relation dose-réponse à partir des données provenant des épidémies internationales par une approche de ré-échantillonnage. Les incertitudes liées aux données et résultant de conditions non systématiquement contrôlées de la collecte des informations a été prise en compte en assignant une distribution d'incertitude aux variables observées potentiellement incertaines. Il en résulte un faisceau de relations dose-réponses possibles représentant l'incertitude liée aux données exploitées. L'impact de l'utilisation des valeurs de paramètres correspondant à la limite haute de la relation dose-réponse sera étudié dans l'analyse des incertitudes (chapitre 2.5.3).

Le relation dose-réponse utilisée pour *E. coli* O157:H7 (Teunis, 2004) est basée sur les données provenant d'une seule et unique épidémie alimentaire qui a eu lieu au Japon en 1996 dans une école élémentaire. On voit bien que par rapport à la démarche de la FAO pour évaluer la relation dose-réponse pour la salmonelle à partir de l'examen des relations expérimentales existantes puis des données épidémiques, la relation retenue pour *E coli* O157:H7 est sûrement peu robuste et nécessite d'être validée par d'autres travaux. Elle reste néanmoins la meilleure estimation en l'état des connaissances actuelles.

La relation dose-réponse sélectionnée pour *Cryptosporidium parvum* est celle qui avait été choisie par l'AFSSA (2002) pour évaluer les risques liés à l'eau de boisson notamment parce qu'elle prenait en compte la réalité biologique des cryptosporidioses dont la distribution des particules infectieuses dans l'eau de boisson. L'extrapolation de cette relation au milieu boues fait donc l'objet d'une incertitude vraie sur les résultats de risque sanitaire. Par ailleurs, cette relation a été construite pour la souche IOWA de *Cryptosporidium* et l'AFSSA précise dans son étude (p97/185) qu'« un modèle plus complet intégrant la variabilité inter-souche pourrait être incorporé sur la base de données plus nombreuses ».

Enfin, les relations utilisées sont établies pour définir la probabilité d'infection et non de maladie. Ainsi, l'étude de Dupont et al. (1995) pour *Cryptosporidium parvum* permet d'estimer que seuls 39 % des individus infectés tombent malades.

## 2.4. EVALUATION DES EXPOSITIONS

L'exposition à un agent pathogène contenu dans une boue suite à un épandage agricole dépend :

- de sa concentration dans la boue;
- des voies et des conditions d'exposition des individus cibles avec la boue.

Cette étape d'évaluation de l'exposition consiste à déterminer les milieux et les voies d'exposition, la fréquence et la durée d'exposition des personnes, et à quantifier l'exposition des populations sur la base d'un schéma conceptuel d'exposition. La figure 2 présente le schéma de principe de l'évaluation de l'exposition.

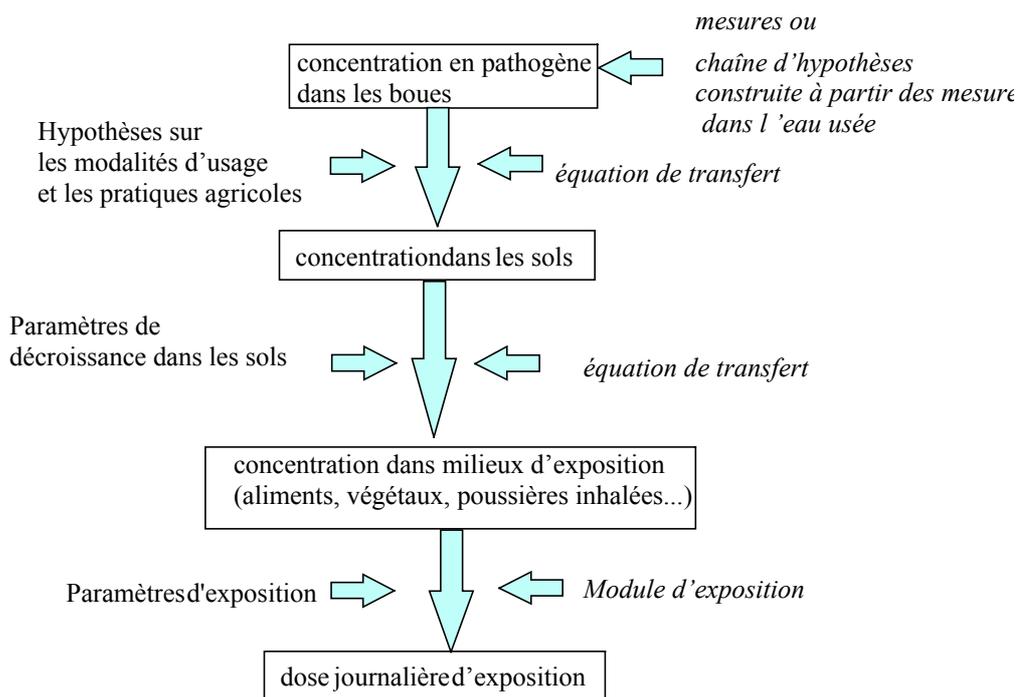


Figure 2 : Schéma de principe de l'évaluation de l'exposition aux pathogènes contenus dans les boues

### 2.4.1. BIBLIOGRAPHIE

#### 2.4.1.1. ETUDES

##### 2.4.1.1.1. Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (1998)

Un groupe de travail « Biologie » a étudié les risques sanitaires liés à la présence d'agents pathogènes dans les boues (CSHPPF 1998).

Les populations concernées sont :

- Le personnel de station d'épuration,
- Les opérateurs de l'épandage,
- La population riveraine,
- Le promeneur en plein champ ou en forêt,
- Les baigneurs,
- Les personnes manipulant des produits dérivés des boues.

L'ensemble des voies d'exposition théoriques ont été recensées.

Les possibilités de **contamination directe** des populations humaines concernent :

- l'ingestion : poussières par les opérateurs, végétaux par des promeneurs en plein champ ou en forêt,
- contact cutané avec les boues : personnel de station d'épuration, agriculteur, transporteur, opérateurs de l'épandage, promeneurs,
- inhalation de particules : personnel de station d'épuration, agriculteur, transporteur, opérateurs de l'épandage, population riveraine.

Les possibilités de **contamination indirecte** envisagées sont :

- ingestion d'eau de surface par des baigneurs,
- ingestion d'eau de puits ou de distribution par les populations riveraines,
- ingestion de végétaux irrigués par des eaux contaminées par les populations riveraines,
- ingestion de végétaux cultivés sur des parcelles amendées,
- ingestion de coquillages,
- contact cutané pour les personnes manipulant des produits dérivés des boues,
- inhalation pour des personnes manipulant des produits dérivés des boues.

#### 2.4.1.1.2. Evaluations préliminaires de risques (US EPA 1991-1992)

Les trois évaluations des risques de l'US EPA reposent sur un modèle numérique et une méthodologie définis antérieurement par l'US EPA. Le modèle s'applique à l'utilisation des boues dans des zones agricoles et à un usage domestique (jardins, pelouses) et prend en compte un très grand nombre de variables plus ou moins bien renseignées. Cinq utilisations des boues traitées ont été étudiées :

- Application de boues liquides à des cultures commerciales pour la consommation humaine,
- Application de boues liquides à des pâturages,
- Application de boues liquides à des cultures qui seront utilisées pour la préparation de nourriture pour animaux,
- Application de boues séchées ou de composts à des jardins domestiques,
- Application de boues séchées ou de composts à des pelouses domestiques.

Les individus exposés pour lesquels une probabilité d'infection a été calculée sont :

- Le travailleur sur le site d'épandage exposé par ingestion ou contact cutané avec des pathogènes suivant un contact direct avec le sols, les végétaux ou par inhalation/ingestion d'aérosols (particulaires ou liquides),
- Le riverain exposé aux aérosols transportés par le vent,
- Le consommateur ingérant des végétaux ou des produits provenant de parcelles épandues,
- Le buveur d'eau de puits à proximité de la parcelle épandue,
- Le nageur exposé par contact cutané et ingestion d'eau contaminée.

#### 2.4.1.1.3. Etude WERF (2003)

Une étude de cas a été menée pour l'ingestion directe de sol contaminé par les Entérovirus. L'originalité et la complexité du modèle conceptuel de transmission

de maladie développé par la WERF repose sur la définition de 6 états de santé (sensible, exposé, porteur sain, malade, porteur sain récemment malade mais asymptomatique, et protégé). Un nombre très important de paramètres relevant de l'exposition ou de l'état de santé est requis.

Les media d'exposition considérés dans l'évaluation anglaise (UKWIR 2003) sont les cultures racinaires (ex carottes, radis), les salades et les céréales. L'hypothèse de travail est que du sol attaché aux cultures pourrait contenir des pathogènes provenant des boues épandues et que 50% de ces cultures ne sont pas consommées pelées ou cuites. Le traitement des boues étudié est la digestion anaérobie mésophile (54% des traitements au Royaume Uni). La population générale est étudiée.

## 2.4.2. METHODE

### 2.4.2.1. CHOIX DES POPULATIONS CIBLES

Le groupe de travail souhaitant appliquer une démarche d'évaluation des risques à un cas concret a fait le choix des populations prioritairement à prendre en compte pour son étude sur des critères de pertinence et de faisabilité s'étayant sur les données bibliographiques (chapitre 3 du rapport) et la réglementation en vigueur.

En résumé, pour l'utilisation des boues non hygiénisées :

- ◆ Sachant qu'aucun transfert des microorganismes d'intérêt sanitaire n'a à ce jour été mis en évidence dans les grandes cultures et que les traitements de transformations des aliments sont délétères pour les microorganismes  
⇒ les grandes cultures type blé, maïs, tournesol ne sont pas considérées par le groupe de travail comme un vecteur prioritaire du risque pathogène lié aux boues
- ◆ Sachant que la migration de salmonelles et *E coli* O157 dans des cultures de type maraîcher a déjà été décrite dans la littérature mais sachant aussi que les microorganismes ne survivront pas aux 18 mois de délais de mise en cultures des plantes maraîchères et fruitières (hors arbres fruitiers) après l'épandage  
⇒ les cultures maraîchères et fruitières directement en contact avec le sol ne sont pas **considérées** par le groupe de travail comme un vecteur prioritaire du risque pathogène lié aux boues
- ◆ Sachant que l'épandage sur culture d'arbres fruitiers ne se fait pas pendant la période de végétation des arbres  
⇒ les fruits ne **sont** pas considérés par le groupe de travail un vecteur prioritaire du risque pathogène lié aux boues

- ◆ Sachant que les taenias provoquent la seule parasitose d'intérêt sanitaire mais qu'il n'existe pas de relation dose-réponse disponible, sachant que le délai de retour au champ des bovins (hôte intermédiaire nécessaire à l'achèvement du cycle parasitaire) est de 6 semaines après l'épandage, sachant qu'une décroissance dans les populations pathogènes se produit pendant les 6 semaines, sachant que les carcasses animales font l'objet d'une surveillance à l'abattoir, sachant que les pratiques culinaires courantes éliminent le parasite de la viande,
  - ⇒ la viande des bovins pâturant sur les parcelles amendées n'est pas considérée par le groupe de travail comme un vecteur des taenia potentiellement présent dans la boues épandues
- ◆ Sachant qu'il n'existe pas à notre connaissance de données quantitatives sur la contamination microbiologique (autre que Taenia) des bovins pâturant sur les parcelles épandues, sachant que la réglementation prévoit 6 semaines de délai entre la remise en pâture et l'épandage, sachant que la cuisson des aliments élimine les microorganismes, sachant que la veille faite par la cellule de veille sanitaire vétérinaire des épandages n'a jamais démontré l'implication des boues dans une pathologie vétérinaire,
  - ⇒ La viande des bovins pâturant sur les parcelles amendées n'est pas considérée par le groupe de travail comme un vecteur prioritaire du risque pathogène lié aux boues

Conclusion 1 : les populations consommant les produits végétaux/animaux issus de la parcelle amendée ne sont pas des populations prioritaires à prendre en compte (confirmé pour partie par les résultats de Gale (2005)).

- ◆ Sachant qu'il n'existe pas à notre connaissance de méthode générique satisfaisante de modélisation des transferts des microorganismes du sol vers les eaux et que le groupe de travail n'a pu formuler des hypothèses pour la prise en compte de cette voie
  - ⇒ la voie eau n'est pas prise en compte dans l'évaluation des risques sanitaires
- ◆ Sachant que la réglementation prévoit des limitations d'usage pour les boues non hygiénisées en vue de la protection des eaux (récréatives, de consommation, d'irrigation cultures maraîchères)
  - ⇒ la voie eau n'est pas jugée prioritaire dans la présente étude.

Conclusion 2 : malgré un manque de données pour démontrer le strict non-transfert des pathogènes vers les eaux, la réglementation existante présente des garanties quant à la protection des eaux. Les consommateurs / utilisateurs d'eaux ne sont donc pas considérées comme des populations prioritaires à prendre en compte.

Conclusion 3 : par élimination, pour son étude de cas dans le cadre des plans d'épandage soumis à autorisation, le groupe de travail a choisi comme cas d'illustration du déroulement de la démarche d'évaluation quantitative des risques sanitaires, les populations cibles suivantes :

- l'agriculteur travaillant sur la parcelle amendée,
- les riverains des sites d'épandage consommant leur production potagère.

#### 2.4.2.2. SCENARIOS D'EXPOSITION

Pour évaluer les expositions de l'**agriculteur** travaillant la parcelle amendée par des boues et du **riverain** possédant un jardin potager à proximité de la parcelle, des scénarios pénalisants sont proposés en lien avec l'épandage de boues liquides non traitées sans enfouissement préalable au moment de l'épandage.

**Pour rappel, en l'absence de relations dose-réponse pour la voie d'exposition par inhalation, seule la voie par ingestion est étudiée dans l'étude de cas.**

**Scénario 1** : agriculteur potentiellement contaminé par ingestion de poussières de sol d'une parcelle (tracteur ouvert) soit 1a) lors de l'enfouissement des boues sous un délai de 24 heures après épandage (déchaumage) soit 1b) lors du travail ultérieur du sol destiné au labours un mois après l'enfouissement.

**Scénario 2** : le riverain potentiellement contaminé d'une part par ingestion de légumes-feuilles, légumes fruits et fruits cultivés sur un jardin potager riverain de la parcelle amendée contaminés par retombées atmosphérique d'aérosols de boues (épandage par rampes d'aspersion équipées de buses et conditions de vent défavorables) sur son jardin potager et d'autre part par ingestion des poussières de sol du jardin lors de son activité de jardinage

Remarque : En l'état actuel de la réglementation et dans le cadre de pratique raisonnable des épandages (limitation des nuisances olfactives), ces conditions sont habituellement interdites ou déconseillées.

**Scénario 3** : le riverain potentiellement contaminé d'une part par ingestion de légumes-racines crus (sauf pommes de terre consommées cuites) cultivés sur un jardin potager riverain de la parcelle amendée contaminé par l'érosion des sols (pluie + vent) de la parcelle amendée et d'autre part par ingestion de poussières de sol lors de son activité de jardinage

L'arbre évènementiel est présenté dans la figure 3.

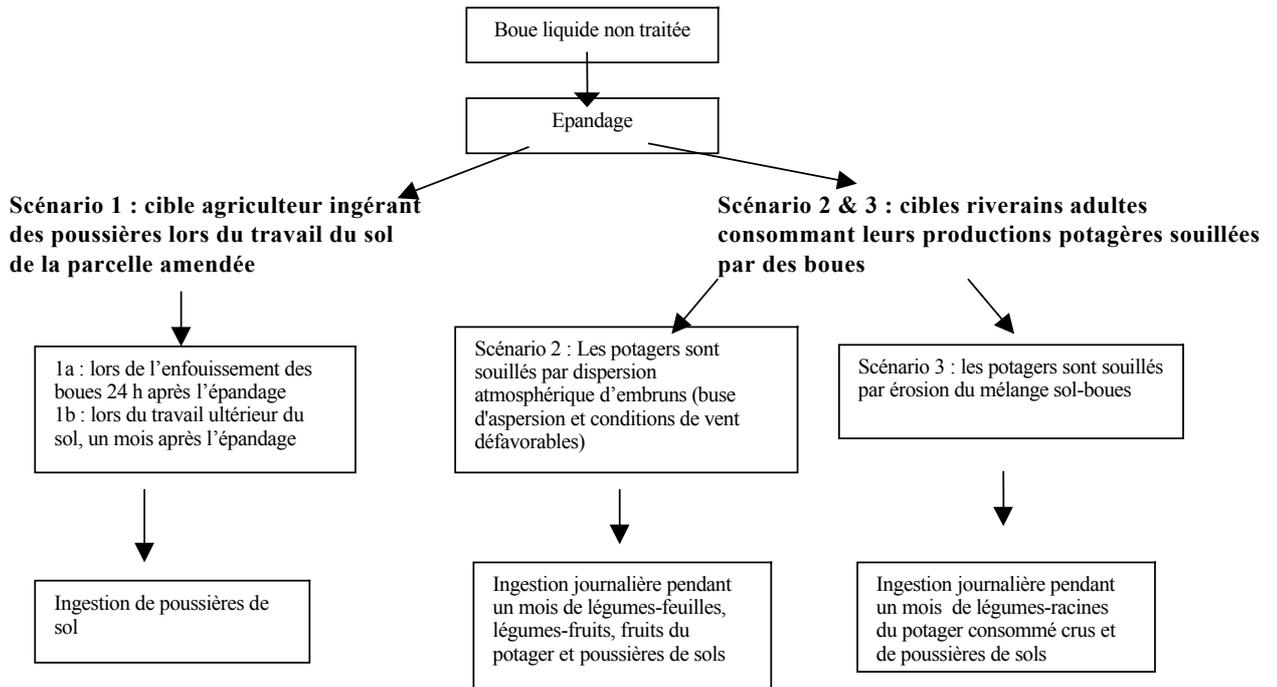


Figure 3 : scénarios d'exposition retenus pour l'évaluation des risques pathogènes.

#### 2.4.2.3. PARAMETRES DE L'EXPOSITION

Dans le cadre de scénarios génériques tels que ceux qui sont étudiés ici, et en l'absence de mesures ou de conditions environnementales spécifiques à un épandage réel, la modélisation des transferts des agents biologiques repose sur du « dire d'expert » et des équations très simplifiées qui ne sont pas toutes vérifiées expérimentalement.

Les principales hypothèses retenues pour les calculs d'exposition sont les suivantes :

- La seule voie d'exposition étudiée est l'ingestion ;
- Les personnes exposées sont des adultes : en cohérence avec les relations dose-réponse qui ont été établies chez des adultes, le scénario « enfant » n'est pas étudié dans cette quantification de risque ;
- L'agriculteur est exposé soit pendant 8 heures le jour suivant l'épandage de la parcelle lors de l'enfouissement des boues (déchaumage) par ingestion de poussières de sol amendé (hypothèse d'un mélange homogène boue/ sol) soit pendant 8 heures un mois après l'enfouissement lors du labour du sol destiné à la culture par ingestion de poussières de sol ;
- Un seul régime alimentaire (quantités auto-consommées) est étudié pour le riverain, à titre d'exemple celui des populations agricoles, de façon à encadrer la valeur haute des niveaux de risque (l'incertitude sur le régime alimentaire sera étudiée au chapitre 2.5.3) ; la contamination des légumes-racines n'a pas été prise en compte dans le scénario 2 car elle a été considérée mineure par rapport à leur contamination par érosion des sols amendés (scénario 3).
- Le riverain est exposé de façon répétée chaque jour pendant un mois consécutif par consommation des végétaux de son potager (scénario 2 et 3) ;

- La décroissance des pathogènes pendant le stockage éventuel des boues liquides non traitées préalablement à l'épandage n'est pas prise en compte ;
- Aucune décroissance des agents pathogènes pendant leur transfert jusqu'aux milieux d'exposition n'est prise en compte : les aérosols de boues émis dans l'air lors de l'épandage jusqu'à leur dépôt sur les végétaux (scénario 2) et des boues au moment de leur épandage et enfouissement jusqu'au sol du jardin potager après érosion (scénario 3) ;
- Dire d'expert : 1 % de la dose épandue est dispersée sous forme d'aérosols (scénario 2) ;
- Dire d'expert : 2 tonnes de sol sont érodés par hectare et par an (scénario 3) ;
- Décroissance dans les sols pour les scénarios 1, 2 et 3 : elle est exprimée selon l'équation empirique  $C(t) = C_0 \times \exp(-kt)$  avec  $C(t)$  concentration dans le sol à l'instant  $t$ ,  $C_0$  concentration dans le sol le jour de l'épandage et  $k$  constante de décroissance dans le sol ( $\text{jour}^{-1}$ ) ; des valeurs minimales et maximales de décroissance sont utilisées pour refléter la variation des décroissances dans les sols en fonction des conditions environnementales qui sont rapportées dans la littérature ; cette équation très simplifiée est loin de représenter la complexité des phénomènes réels de décroissance des pathogènes dans les sols ;
- Décroissance des pathogènes sur les végétaux du scénario 2 : la littérature indique une décroissance rapide des virus et protozoaires sur les végétaux et une décroissance plus longue des bactéries ; mais les rares valeurs de survie retrouvées dans la littérature dépendent étroitement des conditions environnementales étudiées par les auteurs (concentration initiale dans la boue, soleil, humidité, végétal...), voir par exemple le tableau 5 concernant la survie des salmonelles d'après le travail de Brouillard (2003). Par défaut, la constante de décroissance maximale dans les sols sera utilisée pour représenter la décroissance sur les végétaux ;

Bactérie	Végétal	Survie (jours)
<i>Salmonella spp.</i>	Cultures fourragères et industrielles	maximum 70 jours moyenne 20 jours
<i>Salmonella spp.</i>	Végétaux comestibles	15-30 jours
<i>Salmonella spp.</i>	Légume racine (climat chaud)	maximum 50 jours moyenne 20 jours
	Plante à haute tige (climat chaud)	maximum 15 jours moyenne 7 jours
<i>Salmonella ser Typhi</i>	Feuilles et tiges	10-30 jours
	Radis	20-50 jours
	Salade	15-20 jours
<i>Salmonella spp.</i>	Tomates, choux	3-7 jours
	Fruits	2 jours
	Feuilles de divers végétaux	7-40 jours

Tableau 12 : survie des Salmonelles sur divers végétaux.

- Lavage des végétaux : un abattement en pathogènes d'un facteur 10 est appliqué ;

Les valeurs de paramètres des scénarios d'exposition sont présentées dans le tableau 13 ci-après sur deux pages. Ce tableau présente pour chaque paramètre l'origine de la valeur qui a été retenue ainsi que des compléments d'information.

Paramètre	Valeur	Référence	Compléments
Siccité boue liquide	3 %	Consensus des experts du groupe de travail	
Densité boue liquide	1 (1L = 1 kg)	Valeur usuelle pour les boues liquides	
Profondeur sol Jardin potager	20 cm culture racinaire 1 cm pour le dépôt surface	Valeurs proposées par l'INERIS et classiquement utilisées dans les études sanitaires	
Parcelle amendée	10 cm 30 cm	Valeurs proposées par le SYPREA respectivement pour le déchaumage et le labours	
Densité sol	1500 kg/m <sup>3</sup>	Valeur standard	
Dose épandage	2 t MS/ha boues liquides	Consensus des experts du groupe de travail	
Retombées atmosphériques	1 % de la dose	Consensus des experts du groupe de travail en l'absence de valeur mesurée	
Erosion	2 t/ha/an	Consensus des experts du groupe de travail	Valeurs assez hétérogènes : de quelques kg/ha/an jusqu'à 30 tonnes voire plus si coulées de boues (Van Rompaey et al., 2003 et Grimm et al. 2002)  En France les sols qui sont soumis à une érosion sévère perdent entre 2 et 5 t/ha/an.
Décroissance dans les sols (jour <sup>-1</sup> ) Minimum-maximum	Entérovirus : 0,1- 0,562 <i>Salmonella</i> : 0,03 - 1,83 <i>E coli</i> O157 : 0,02- 0,09 <i>C. parvum</i> : 0,0033- 0,048	WERF (2003) (Bigras-Poulin 2004) UK WIR (2003) (Udeh and Veenstra 2003) et UKWIR (2003)	
Consommation de légumes racines hors pommes de terre <b>scénario 3</b> Consommation crue	20 g/j  50 %	CIBLEX (2003) Quantités autoconsommées régime alimentaire agricole  UK WIR (2003)	
Consommation de légumes-feuilles légumes fruits et fruits <b>scénario 2</b>	31 g/j 18 g/j 41,5 g/j	CIBLEX (2003) Quantités autoconsommées régime alimentaire agricole, adultes 17 à 60 ans	
Adhésion terre/végétal racine	1 % (poids frais)	UK WIR (2003)	Dire d'expert anglais + CLEA Model (1 %) basé sur les

Paramètre	Valeur	Référence	Compléments
<b>scénario 3</b>			étude de Sheppard (1992) et Alloway et al. (1988) + NRPB (1995) farmland model (0,1 % poids sec)
Lavage <b>scénario 2 et 3</b>	1 log	Watanabe (2002)	
Ingestion poussières adulte sol	216 mg/j agriculteur (tracteur ouvert)  10 mg/j riverain	Valeur proposée d'après les données de concentration en poussières totales et respirables SOFRAB (2002)  WERF 2003	18 mg/m <sup>3</sup> poussières « ingérables » et volume respiratoire de 1,5 m <sup>3</sup> /h (EFH 1997) correspondant à un travailleur, activité modérée  1 / 10 / 200 mg/j (Calabrese et al. 1997, Clausing et al. 1987, Hawley 1985, Lepow et al. 1975, Roels et al 1980, Stanek et Calabrese 2000)
Durée d'exposition	8 heures/jour pour l'agriculteur  1 mois pour le riverain	Consensus des experts du groupe de travail	1 / 7 / 365 j WERF (2003) 1 / 10 j Gerba (2002) 284 j UK WIR (2003)

Tableau 13 : paramètres de l'exposition.

#### 2.4.2.4. EQUATIONS DE CALCULS

##### 2.4.2.4.1. Scénario 1 : agriculteur

###### ◆ Concentration dans le sol

$$C_{\text{sol amendé}}(t) = (C_{\text{o boue}} / F) \times \exp(-kt)$$

Avec

$C_{\text{sol}}(t)$  : concentration dans le sol (h = 10 ou 30 cm) (pathogènes/t sol)

$C_{\text{o boue}}$  : concentration initiale de pathogènes dans la boue (pathogènes/t MS)

F = facteur de dilution dans le sol défini comme suit : quantité de sol d'une surface d'un hectare contenu dans une profondeur de h centimètres rapporté à la quantité de boue épandue sur 1 hectare

$$F_{1a} = 10\,000\text{m}^2 \times 10 \cdot 10^{-2} \text{ m} \times 1500 \text{ kg/m}^3 / 2 \text{ t boue MS/ha}$$

$$F_{1a} = 1500 \text{ t sol} / 2 \text{ t MS} = 750$$

Dans le cas particulier où l'agriculteur est exposé au bout d'un mois, le facteur de dilution est calculé comme suit :

$$F_{1b} = 10\,000\text{m}^2 \times 30 \cdot 10^{-2} \text{ m} \times 1500 \text{ kg/m}^3 / 2 \text{ t boue MS/ha}$$

$$F_{1b} = 4500 \text{ t sol} / 2 \text{ t MS} = 2250$$

k constante de décroissance minimale ou maximale dans les sols (jour<sup>-1</sup>)

◆ Dose journalière d'exposition  $D_{ag}$  (pathogènes/jour)

$$D_{ag}(t) = C_{sol \text{ amendé}}(t) \times 10^{-9} \times Q_{ing}$$

Avec :

$C_{sol}$  concentration dans le sol (pathogènes/t sol)

$Q_{ing}$  quantité journalière de sol amendé ingérée (mg/jour)

2.4.2.4.2. Scénario 2 : riverain exposé par les retombées atmosphériques

◆ Concentration dans le sol

$$C_{sol}(t) = (C_{o \text{ boue}} / F) \times \exp(-kt)$$

Avec :

$C_{sol}(t)$  : concentration dans le sol ( $h=1\text{cm}$ ) au temps  $t$  défini en jour (pathogènes/t sol)

$C_{o \text{ boue}}$  : concentration initiale de pathogènes dans la boue (pathogènes/t MS)

$F$  = facteur de dilution dans le sol défini comme suit : quantité de sol d'une surface d'un hectare contenu dans une profondeur d'un centimètre rapporté à la quantité de boue sous forme d'aérosols correspondant à 1% de la dose d'épandage. Cela signifie que les aérosols issus d'un épandage sur une surface donnée vont se déposer sur une surface équivalente, hypothèse forte retenue par défaut en l'absence de connaissances plus précises sur la modélisation de la dispersion des aérosols en fonction du matériel d'épandage et de conditions météorologiques spécifiques. Cette hypothèse est un facteur d'incertitude vraie du risque

$$F_{\text{liquide}} = 10\,000\text{m}^2 \times 1.10^{-2} \text{ m} \times 1500 \text{ kg/m}^3 / (0,01 \times 2 \text{ t boue MS/ha})$$

$$F_{\text{liquide}} = 150 \text{ t sol} / 0,02 \text{ t MS} = 7500$$

$k$  constante de décroissance minimale ou maximale dans les sols ( $\text{jour}^{-1}$ )

◆ Concentration dans les végétaux

En l'absence de données précises sur le phénomène de lessivage des agents pathogènes sur les végétaux pouvant résulter de pluies, l'hypothèse est faite qu'il n'y a pas de perte en agents pathogènes, ce qui tend à surestimer les calculs de risque.

$$C_{o \text{ vég frais}} = C_{o \text{ boue}} \cdot \text{Dépôt} \cdot R_p / Y_p \times \text{tms}$$

$$C_{\text{vég frais}}(t) = C_{o \text{ vég frais}} \times \exp(-kt)$$

Avec :

$C_{o \text{ vég frais}}$  : concentration initiale en pathogènes dans les végétaux frais (pathogènes/kg frais) juste après l'épandage

$C_{o \text{ boue}}$  : concentration initiale en pathogènes dans les boues (pathogènes/t MS)

Dépôt = 1% de la dose d'épandage ( $2.10^{-6} \text{ t MS boue/m}^2$ )

$R_p$  : fraction interceptée par les cultures (sans unité)

$Y_p$  : rendement de production ( $\text{kg sec/m}^2$ )

tms: taux de matière sèche

$C_{\text{vég frais}}(t)$  : concentration au temps  $t$  défini en jour en pathogènes dans les végétaux frais (pathogènes/kg frais)

$k$  : constante de décroissance maximale dans les sols ( $\text{jour}^{-1}$ )

Les valeurs utilisées pour les paramètres  $R_p$  et  $Y_p$  sont issus de la méthodologie US-EPA (1998) et ceux de  $t_{ms}$  de l'étude de Bonnard (2003). Elles sont présentées dans le tableau suivant.

	Légume feuille	Légume fruit	Fruit
$R_p$ (sans unité)	0,215	0,996	0,053
$Y_p$ (kg MS/m <sup>2</sup> )	0,246	10,52	0,252
$t_{ms}$	0,086	0,063	0,15

Tableau 14 : valeurs des paramètres nécessaires au calcul des concentrations dans les végétaux dûs au dépôt atmosphérique.

◆ Dose journalière d'exposition  $D_{\text{dépôt}}(t)$

$$D_{\text{dépôt}}(t) = \sum_i (Q_i_{\text{vég}} \times 10^{-3} \times C_i_{\text{vég}}(t)) \times \text{abat lavage} + Q_{\text{sol}} \times 10^{-9} \times C_{\text{sol}}(t)$$

Avec :

$D_{\text{dépôt}}(t)$  : dose journalière d'exposition au jour  $t$  due à la consommation de végétaux contaminés par retombés atmosphériques (pathogènes /jour)

$Q_i_{\text{vég}}$  : quantité de végétal  $i$  ingérée par jour (g/j)

$C_i_{\text{vég}}(t)$  : concentration dans le végétal  $i$  au jour  $t$  (pathogènes/kg frais)

$Q_{\text{sol}}$  : quantité de sol ingérée par jour (mg/j)

$C_{\text{sol}}(t)$  : concentration dans le sol au jour  $t$  (pathogènes/t sol)

#### 2.4.2.4.3. Scénario 3 : riverain exposé par l'érosion de la parcelle amendée

◆ Concentration dans le sol

$$C_{\text{sol}}(t) = (C_{\text{sol amendé}} / F) \times \exp(-kt)$$

Avec

$C_{\text{sol}}(t)$  : concentration dans le sol ( $h = 20\text{cm}$ ) au temps  $t$  défini en jour (pathogènes / t sol)

$C_{\text{sol amendé}}$  : concentration initiale de pathogènes dans le sol amendé après enfouissement (pathogènes / t MS)

$F$  = facteur de dilution dans le sol défini comme suit : quantité de sol d'une surface d'un hectare contenu dans une profondeur de vingt centimètres rapporté à la quantité de boue érodée en un mois.

$$F_{\text{liquide}} = 10\,000\text{m}^2 \times 20 \cdot 10^{-2}\text{m} \times 1500\text{kg/m}^3 / (2\text{ t/ha/an} / 12)$$

$$F_{\text{liquide}} = 3000\text{ t sol} / 0,166 = 18\,000$$

$k$  constante de décroissance minimale ou maximale dans les sols ( $\text{jour}^{-1}$ )

◆ Concentration dans les végétaux racines crus

$$C_{\text{vég racine}}(t) = C_{\text{o sol}} \times \exp(-kt) \times \% \text{ adhésion}_{\text{terre/vég racine}}$$

Avec :

$C_{\text{vég racine}}(t)$  : concentration au temps  $t$  défini en jour en pathogènes dans les végétaux racines crus (pathogènes/t frais)

$C_{\text{o sol}}$  : concentration initiale en pathogènes dans le sol ( $h=20$  cm) après érosion (pathogènes/t sol)

$k$  constante de décroissance minimale ou maximale dans les sols ( $\text{jour}^{-1}$ )

◆ Dose journalière d'exposition  $D_{\text{érosion}}(t)$

$$D_{\text{érosion}}(t) = Q_{\text{vég racine}} \times 10^{-6} \times C_{\text{vég racine}}(t) \times \text{abat lavage} \times \% \text{ cons crue} + Q_{\text{sol}} \times 10^{-9} \times C_{\text{sol}}(t)$$

Avec :

$D_{\text{érosion}}(t)$  : dose journalière d'exposition au jour  $t$  due à la consommation de végétaux racines crus contaminés par érosion de la parcelle amendée (pathogènes /jour)

$Q_{\text{vég racine}}$  : quantité de végétal racine ingérée par jour (g/j)

$C_{\text{vég racine}}(t)$  : concentration dans le végétal racine (pathogènes/t frais)

$Q_{\text{sol}}$  : quantité de sol ingérée par jour (mg/j)

$C_{\text{sol}}(t)$  : concentration dans le sol ( $h=20$ cm) au temps  $t$  défini en jour (pathogènes/t sol)

### 2.4.3. RESULTATS

Les doses ingérées pour chaque scénario et pour chaque pathogène étudié sont présentées dans les tableaux suivants.

Scénario 1	Agriculteur 1 a (J1)		Agriculteur 1b (J30)	
	Décroissance minimale dans les sols	Décroissance maximale dans les sols	Décroissance minimale dans les sols	Décroissance maximale dans les sols
Entérovirus	$7,3 \cdot 10^{-2}$	$4,6 \cdot 10^{-2}$	$1,3 \cdot 10^{-3}$	$1,3 \cdot 10^{-9}$
Salmonelles non typhi	2,8	$4,6 \cdot 10^{-1}$	$3,9 \cdot 10^{-1}$	$1,4 \cdot 10^{-24}$
<i>E. coli</i> O157 : H7	$1,7 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$3,2 \cdot 10^{-5}$	$3,9 \cdot 10^{-6}$
Cryptosporidium parvum	$2,9 \cdot 10^{-2}$	$2,7 \cdot 10^{-2}$	$8,7 \cdot 10^{-3}$	$2,3 \cdot 10^{-3}$

Tableau 15 : dose journalière ingérée (pathogènes/jour) par l'agriculteur pour les boues liquides non traitées.

Scénario 2 : Riverain dépôt atmosphérique (J1- J30)	Régime alimentaire agricole	
Pathogène	Décroissance minimale dans les sols	Décroissance maximale dans les sols
Entérovirus	$1.10^{-1}$ - $1,9.10^{-5}$	$1.10^{-1}$ - $8,4.10^{-9}$
Salmonelles	$1-5,4.10^{-3}$	$1-1,9.10^{-24}$
<i>E. coli</i> O157 : H7	$3,5.10^{-4}$ - $2,6.10^{-5}$	$3,5.10^{-4}$ - $2,5.10^{-5}$
Cryptosporidium parvum	$6.10^{-2}$ - $1,5.10^{-2}$	$6.10^{-2}$ - $1,5.10^{-2}$

Tableau 16 : dose journalière ingérée (pathogènes/jour) par le riverain (dépôt atmosphérique) pour les boues liquides non traitées.

Scénario 3 : Riverain Erosion (J1- J30)	Régime alimentaire agricole	
Pathogène	Décroissance minimale dans les sols	Décroissance maximale dans les sols
Entérovirus	$3,4.10^{-7}$ - $1,9.10^{-8}$	$1,4.10^{-7}$ - $1,1.10^{-11}$
Salmonelles	$1,4.10^{-5}$ - $5,8.10^{-6}$	$3,8.10^{-7}$ - $3,4.10^{-30}$
<i>E. coli</i> O157 : H7	$8,5.10^{-10}$ - $4,8.10^{-10}$	$7,4.10^{-10}$ - $5,5.10^{-11}$
Cryptosporidium parvum	$1,5.10^{-7}$ - $1,3.10^{-7}$	$1,4.10^{-7}$ - $3,4.10^{-8}$

Tableau 17 : dose journalière ingérée (pathogènes/jour) par le riverain (érosion) pour les boues liquides non traitées.

#### 2.4.4. DISCUSSION

Pour l'agriculteur 1a, pour une décroissance minimale dans les sols, les quantités de pathogènes ingérés par jour dans les poussières du sol amendé sont très faibles : environ 2,8 unités pour les salmonelles non typhi et des quantités inférieures à un pathogène par jour pour Entérovirus > *C. parvum* > *E. coli* O157. Pour une décroissance maximale dans les sols, l'ensemble des doses ingérées est inférieure à un pathogène ingéré par jour.

Pour l'agriculteur 1b, quelle que soit la décroissance dans les sols, les quantités de pathogènes ingérés par jour dans les poussières du sol amendé sont toutes inférieures à un pathogène ingéré par jour.

Pour le riverain, l'ensemble des doses d'exposition des scénarios 2 et 3 sont inférieures ou égale (salmonelle, scénario 2, J1, décroissance minimale dans les sols) à un pathogène ingéré par jour.

Par rapport aux doses infectieuses rapportées dans la littérature grâce à des données provenant d'épidémies hydriques ou alimentaires, on peut dire que la dose d'exposition résultant de l'épandage des boues dans le cadre des scénarios étudiés est :

- Inférieure à la DMI rapportée pour les entérovirus (10 à 15 particules infectieuses) pour les agriculteurs et les riverains ;
- Inférieure à la valeur haute et à la valeur basse de la fourchette de valeurs pour *Salmonella* non typhi (respectivement  $10^{11}$  et  $10^1$  cellules) pour l'agriculteur et pour le riverain du scénario 2;
- Inférieure à la DMI rapportée pour *E. coli* O157 : H7 (10 cellules) pour les agriculteurs et les riverains ;
- Inférieure à l' $ID_{50}$  (132 organismes d'après Santé Canada 2002) rapportée pour *Cryptosporidium parvum* pour les agriculteurs et les riverains.

## 2.5. QUANTIFICATION DU RISQUE

### 2.5.1. METHODE

Les relations dose-réponse permettent d'estimer un **risque journalier d'infection** (et non de maladie qui serait un stade ultérieur avec une certaine probabilité non déterminée et prise en compte dans cette évaluation).

Ces estimations sont calculées pour l'agriculteur (scénarios 1a et 1b) exposé pendant une journée de 8 heures et pour les riverains (scénarios 2 et 3) pour chaque jour pendant le mois d'exposition.

Les estimations de risque journalier d'infection peuvent être extrapolées à un risque annuel (Haas, 1999).

Si  $P_j(\text{inf})$  et  $P_n(\text{inf})$  sont respectivement les probabilités d'infection après une seule exposition (ex : journalière) et après une exposition répétée (n fois une exposition journalière) alors :

$$P_n(\text{inf}) = 1 - (1 - P_j(\text{inf}))^n \sim n \times P_j(\text{inf}) \text{ si } P_j(\text{inf}) \ll 1$$

Le niveau de risque annuel estimé correspond à la probabilité d'avoir au moins une infection sur la durée de l'exposition.

Dans cette étude, le risque annuel est uniquement calculé pour l'exposition du riverain exposé pendant un mois chaque jour puisque pour l'agriculteur, si l'exposition après l'épandage est unique dans l'année, elle correspond déjà à un risque annuel.

### 2.5.2. RESULTATS

#### 2.5.2.1. VIRUS ENTERIQUES

Les niveaux de risque d'infection journaliers pour l'agriculteur et le riverain sont respectivement présentés dans le tableau 18 et le tableau 19.

Risque d'infection	Décroissance minimum dans l'environnement	Décroissance maximum dans l'environnement
Agriculteur 1 a	$4,1 \cdot 10^{-2}$	$2,7 \cdot 10^{-2}$
Agriculteur 1b	$8,3 \cdot 10^{-4}$	$7,9 \cdot 10^{-10}$

Tableau 18 : risque d'infection de l'agriculteur pour les Entérovirus.

Risque d'infection	Risque journalier		Risque d'exposition répétée chaque jour pendant un mois	
	Décroissance minimum dans l'environnement (J1-J30)	Décroissance maximum dans l'environnement (J1-J30)	Décroissance minimum dans l'environnement	Décroissance maximum dans l'environnement
Scénario 2 : riverains/retombées	$5,4 \cdot 10^{-2} - 1,2 \cdot 10^{-5}$	$5,4 \cdot 10^{-2} - 5,2 \cdot 10^{-9}$	$2 \cdot 10^{-1}$	$2 \cdot 10^{-1}$
Scénario 3 : riverains/érosion	$2,1 \cdot 10^{-7} - 1,2 \cdot 10^{-8}$	$8,3 \cdot 10^{-8} - 6,9 \cdot 10^{-15}$	$2,3 \cdot 10^{-6}$	$3,4 \cdot 10^{-7}$

Tableau 19 : risque d'infection journalier et pour 30 jours d'exposition répétée du riverain pour les Entérovirus (régime agricole).

Pour l'**agriculteur** enfouissant les boues un jour après l'épandage (1a), le risque d'infection journalier (décroissance minimum dans l'environnement) est estimé à environ 4 chances sur 100 d'être infecté par un Entérovirus contenu dans les boues non traitées et le risque résultant d'une exposition au bout de 30 jours après enfouissement lors des labours (1b) est estimé à environ 8 chances sur 10 000 d'être infecté (décroissance minimum dans l'environnement).

Pour le **riverain** qui consomme des végétaux de son jardin contaminés par retombées atmosphériques suite à un épandage de boues non traitées sur une parcelle limitrophe de son jardin, le risque est estimé à environ 5 chances sur 100 d'être infecté par un Entérovirus provenant des boues le premier jour après l'épandage (décroissance minimale dans l'environnement).

Le risque résultant d'une exposition répétée chaque jour pendant un mois est estimé à environ 2 chances sur 10 d'être infecté par un Entérovirus.

Pour le riverain qui consomme des légumes-racines de son jardin potager contaminés par érosion suite à un épandage de boues liquides non traitées sur une parcelle limitrophe de son jardin, le risque journalier est estimé à environ de 2 chances sur 10 000 000 d'être infecté par un Entérovirus provenant des boues le premier jour après l'épandage (décroissance minimale dans l'environnement).

Le risque résultant d'une exposition répétée chaque jour pendant un mois est estimé à environ 2 chances sur 1 000 000 d'être infecté par un Entérovirus.

2.5.2.2. SALMONELLA NON TYPHI

Les niveaux de risque d'infection journaliers et pour une exposition répétée pour les agriculteurs et les riverains sont présentés dans le tableau 20 et le tableau 21.

Risque d'infection	Décroissance minimum dans l'environnement	Décroissance maximum dans l'environnement
Agriculteur 1 a	$7.10^{-3}$	$1,2.10^{-3}$
Agriculteur 1b	$1.10^{-3}$	$\varepsilon$

Tableau 20 : risque d'infection de l'agriculteur pour les salmonelles non typhi.

Risque d'infection	Risque journalier		Risque d'exposition répétée chaque jour pendant 1 mois	
	Décroissance minimum dans l'environnement (J1-J30)	Décroissance maximum dans l'environnement (J1-J30)	Décroissance minimum dans l'environnement	Décroissance maximum dans l'environnement
Scénario 2 : riverains/retombées	$2,6.10^{-3}-1,4.10^{-5}$	$2,6.10^{-3} - \varepsilon$	$1,9.10^{-2}$	$1,8.10^{-2}$
Scénario 3 : riverains/érosion	$3,6.10^{-8}-1,5.10^{-8}$	$9,8.10^{-10} - \varepsilon$	$7,6.10^{-7}$	$7,3.10^{-9}$

Tableau 21 : risque d'infection journalier et pour 30 jours d'exposition répétée du riverain pour *Salmonella* spp. (régime agricole).

Pour l'**agriculteur** enfouissant les boues un jour après l'épandage (1a), le risque d'infection journalier (décroissance minimum dans l'environnement) est estimé à environ 7 chances sur 1000 d'être infecté par des salmonelles non typhi contenues dans les boues non traitées et le risque résultant d'une exposition au bout de 30 jours après enfouissement lors des labours (1b) est estimé à environ 1 chance sur 1 000 d'être infecté (décroissance minimum dans l'environnement).

Pour le **riverain** qui consomme des végétaux de son jardin contaminés par retombées atmosphériques suite à un épandage de boues non traitées sur une parcelle limitrophe de son jardin, le risque est estimé à environ 3 chances sur 1 000 d'être infecté par des salmonelles non typhi provenant des boues le premier jour après l'épandage (décroissance minimale dans l'environnement).

Le risque résultant d'une exposition répétée chaque jour pendant un mois est estimé à environ 2 chances sur 100 d'être infecté par des salmonelles non typhi.

Pour le riverain qui consomme des légumes-racines de son jardin potager contaminés par érosion suite à un épandage de boues liquides non traitées sur une parcelle limitrophe de son jardin, le risque journalier est estimé à environ de 4 chances sur 100 000 000 d'être infecté par des salmonelles non typhi provenant

des boues le premier jour après l'épandage (décroissance minimale dans l'environnement).

Le risque résultant d'une exposition répétée chaque jour pendant un mois est estimé à environ 8 chances sur 10 000 000 d'être infecté par des salmonelles non typhi.

### 2.5.2.3. *E. coli* O157 : H7

Les niveaux de risque d'infection journaliers et annuels pour les opérateurs et les riverains sont présentés dans le tableau 22 et le tableau 23.

Risque d'infection	Décroissance minimum dans l'environnement	Décroissance maximum dans l'environnement
Agriculteur 1 a	$8,5 \cdot 10^{-6}$	$7,9 \cdot 10^{-6}$
Agriculteur 1b	$1,6 \cdot 10^{-6}$	$1,9 \cdot 10^{-7}$

Tableau 22 : risque d'infection de l'agriculteur pour *E coli* O157 : H7.

Risque d'infection	Risque journalier		Risque d'exposition répétée chaque jour pendant 1 mois	
	Décroissance minimum dans l'environnement (J1-J30)	Décroissance maximum dans l'environnement (J1-J30)	Décroissance minimum dans l'environnement	Décroissance maximum dans l'environnement
Scénario 2 : riverains/ retombées	$1,7 \cdot 10^{-5}$ - $1,3 \cdot 10^{-6}$	$1,7 \cdot 10^{-5}$ - $1,3 \cdot 10^{-6}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$
Scénario 3 : riverains/ érosion	$4,3 \cdot 10^{-11}$ - $2,4 \cdot 10^{-11}$	$3,7 \cdot 10^{-11}$ - $2,7 \cdot 10^{-12}$	$1 \cdot 10^{-9}$	$4,4 \cdot 10^{-10}$

Tableau 23 : risque d'infection journalier et pour 30 jours d'exposition répétée du riverain pour *E. coli* O157 : H7 (régime alimentaire agricole).

Pour l'**agriculteur** enfouissant les boues un jour après l'épandage (1a), le risque d'infection journalier (décroissance minimum dans l'environnement) est estimé à environ 9 chances sur 1 000 000 d'être infecté par des *E. coli* O157 : H7 contenues dans les boues non traitées et le risque résultant d'une exposition au bout de 30 jours après enfouissement lors des labours (1b) est estimé à environ 2 chances sur 1 000 000 d'être infecté (décroissance minimum dans l'environnement).

Pour le **riverain** qui consomme des végétaux de son jardin contaminés par retombées atmosphériques suite à un épandage de boues non traitées sur une parcelle limitrophe de son jardin, le risque est estimé à environ 2 chances sur 100 000 d'être infecté par des *E. coli* O157 : H7 provenant des boues le premier jour après l'épandage (décroissance minimale dans l'environnement).

Le risque résultant d'une exposition répétée chaque jour pendant un mois est estimé à environ 2 chances sur 10 000 d'être infecté par des salmonelles non typhi.

Pour le riverain qui consomme des légumes-racines de son jardin potager contaminés par érosion suite à un épandage de boues liquides non traitées sur une parcelle limitrophe de son jardin, le risque journalier est estimé à environ de 4 chances sur 100 000 000 000 d'être infecté par des *E. coli O157 : H7* provenant des boues le premier jour après l'épandage (décroissance minimale dans l'environnement).

Le risque résultant d'une exposition répétée chaque jour pendant un mois est estimé à environ 1 chance sur 1 000 000 000 d'être infecté par des *E. coli O157 : H7*.

#### 2.5.2.4. CRYPTOSPORIDIUM PARVUM

Les niveaux de risque d'infection journaliers et annuels pour les opérateurs et les riverains sont présentés dans le tableau 24 et le tableau 25.

Risque d'infection	Décroissance minimum dans l'environnement	Décroissance maximum dans l'environnement
Agriculteur 1 a	$1,2 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$
Agriculteur 1b	$3,6 \cdot 10^{-5}$	$9,6 \cdot 10^{-6}$

Tableau 24 : risque d'infection de l'agriculteur pour *Cryptosporidium parvum*.

Risque d'infection	Risque journalier		Risque d'exposition répétée chaque jour pendant 1 mois	
	Décroissance minimum dans l'environnement (J1-J30)	Décroissance maximum dans l'environnement (J1-J30)	Décroissance minimum dans l'environnement	Décroissance maximum dans l'environnement
Scénario 2 : riverains/ retombées	$2,5 \cdot 10^{-4}$ - $6,3 \cdot 10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^{-4}$ - $6,3 \cdot 10^{-5}$	$4,4 \cdot 10^{-3}$	$4,4 \cdot 10^{-3}$
Scénario 3 : riverains/ érosion	$6,2 \cdot 10^{-10}$ - $5,6 \cdot 10^{-10}$	$5,6 \cdot 10^{-10}$ - $1,4 \cdot 10^{-10}$	$1,8 \cdot 10^{-8}$	$9,8 \cdot 10^{-9}$

Tableau 25 : risque d'infection journalier et pour 30 jours d'exposition répétée du riverain pour *Cryptosporidium parvum* (régime agricole).

Pour l'**agriculteur** enfouissant les boues un jour après l'épandage (1a), le risque d'infection journalier (décroissance minimum dans l'environnement) est estimé à environ 1 chance sur 10 000 d'être infecté par *Cryptosporidium parvum* contenu dans les boues non traitées et le risque résultant d'une exposition au bout de

30 jours après enfouissement lors des labours (1b) est estimé à environ 4 chances sur 100 000 d'être infecté (décroissance minimum dans l'environnement).

Pour le **riverain** qui consomme des végétaux de son jardin contaminés par retombées atmosphériques suite à un épandage de boues non traitées sur une parcelle limitrophe de son jardin, le risque est estimé à environ 3 chances sur 10 000 d'être infecté par des *Cryptosporidium parvum* provenant des boues le premier jour après l'épandage (décroissance minimale dans l'environnement).

Le risque résultant d'une exposition répétée chaque jour pendant un mois est estimé à environ 4 chances sur 1 000 d'être infecté par *Cryptosporidium parvum*.

Pour le riverain qui consomme des légumes-racines de son jardin potager contaminés par érosion suite à un épandage de boues liquides non traitées sur une parcelle limitrophe de son jardin, le risque journalier est estimé à environ de 6 chances sur 10 000 000 d'être infecté par *Cryptosporidium parvum* provenant des boues le premier jour après l'épandage (décroissance minimale dans l'environnement).

Le risque résultant d'une exposition répétée chaque jour pendant un mois est estimé à environ 2 chance sur 100 000 000 d'être infecté par *Cryptosporidium parvum*.

### 2.5.3. SYNTHÈSE ET DISCUSSION

Le tableau suivant présente l'ensemble des probabilités d'avoir au moins une infection sur la durée d'exposition qui ont été estimées par les calculs précédents.

pathogène	agriculteur 1a	agriculteur 1b	riverain retombées	riverains érosion
Entérovirus	$4,1.10^{-2}$	$8,3.10^{-4}$	$2.10^{-1}$	$2,3.10^{-6}$
salmonelles	$6,9.10^{-3}$	$1.10^{-3}$	$1,9.10^{-2}$	$7,6.10^{-7}$
<i>E. coli</i> O157	$8,5.10^{-6}$	$1,6.10^{-6}$	$2,1.10^{-4}$	$1.10^{-9}$
<i>Cryptosporidium</i>	$1,2.10^{-4}$	$3,6.10^{-5}$	$4,4.10^{-3}$	$1,8.10^{-8}$

Tableau 26 : synthèse des probabilités d'avoir au moins une infection sur la durée d'exposition.

Cet exercice d'évaluation des risques avait pour objectif d'estimer, en l'état actuel des connaissances, l'ordre de grandeur du risque sanitaire pathogène attendu pour les agriculteurs et les riverains liés à l'épandage de boues d'épuration.

Elle repose sur un grand nombre d'hypothèses de travail et de valeurs de paramètres entourées d'incertitudes. En effet, en l'absence de données suffisantes, des valeurs considérées comme réalistes (dose moyenne d'épandage...) ou très conservatrices (quantités de poussières ingérées...) ont été utilisées suite à un consensus d'experts.

Les principales sources d'incertitudes sont liées :

- à l'estimation de la quantité de pathogènes dans les boues,
- à l'évaluation de la relation dose-réponse,

- aux scénarios d'exposition.

Elles sont discutées ci-après.

#### 2.5.3.1. L'ESTIMATION DE LA QUANTITE DE PATHOGENES DANS LES BOUES

Les quantités de pathogènes dans les boues non traitées ont été déterminées soit par consensus d'experts à partir de données existantes (entérovirus et salmonelles) soit à partir de chaînes d'hypothèses basées sur la contamination des déjections animales (*E coli* O157 :H7) ou des eaux usées (*C. parvum*). Mais l'hétérogénéité naturelle des quantités de pathogènes présents dans les boues rajoute de l'incertitude quant à l'utilisation des données de contamination déterminées dans l'évaluation des risques sanitaires. Cette variabilité n'est pas connue avec précision au niveau national par manque de données de contamination des boues. Par ailleurs, rappelons les problèmes inhérents à la mesure, l'analyse étant également entachée d'incertitudes liées au taux de recouvrement des pathogènes dans les milieux.

Cependant, l'existence de données de contamination maximale dans les boues pour les Entérovirus donne un aperçu de l'incertitude liée à la contamination des boues. Avec une contamination de 900 NPPUC/g MS (au lieu de 280 NPPUC/g MS soit 3,2 fois plus), on obtient, à titre d'exemple pour l'agriculteur 1a et pour une décroissance minimale dans les sols, les niveaux de risque présentés dans le tableau suivant. La valeur entre parenthèses correspond au niveau valeurs de risque estimé à partir de la concentration moyenne dans les boues qui a été utilisée au chapitre 2.5.2.1.

Risque d'infection journalier	Entérovirus
Agriculteur 1 a	$1,1 \cdot 10^{-1}$ ( $4,1 \cdot 10^{-2}$ )

Tableau 27 : impact de la concentration des Entérovirus dans les boues sur les niveaux de risque d'infection de l'agriculteur 1a.

Le risque d'infection pour l'agriculteur enfouissant les boues le jour après l'épandage est globalement augmenté d'un facteur 2,6.

Par ailleurs, à défaut d'autres données disponibles, la contamination des boues liquides non traitées en salmonelles a été surestimée (charge maximale des boues biologiques).

Enfin, la viabilité de *Cryptosporidium spp.* dans les boues n'a pas été prise en compte et constitue un facteur de surestimation des calculs de risque. En effet, la connaissance de ce paramètre est difficile en l'état des connaissances actuelles.

#### 2.5.3.2. L'EVALUATION DE LA RELATION DOSE-REPONSE

Comme présenté en détail dans le chapitre 2.3.3, il existe des incertitudes sur les relations dose-réponse attribuables à l'état des connaissances insuffisant (peu d'études en général et aucune en lien avec la matrice boue) et à la difficulté d'extrapoler des résultats d'études expérimentales à des conditions environnementales.

L'impact de l'utilisation d'un jeu de valeurs hautes de paramètres de la relation dose-réponse des entérovirus (WERF 2003) d'une part, et des salmonelles (WHO

2004) d'autre part, est étudié dans le tableau 28 et le tableau 29, à titre d'exemple dans le cas de l'agriculteur 1a (décroissance minimale dans les sols).

On rappelle que les relations utilisées sont représentatives de l'état de santé de populations immunocompétentes et que l'on ne sait pas décrire en l'état des connaissances actuelles, les risques pour les populations sensibles. Par ailleurs, c'est le risque d'infection qui est estimé dans l'ensemble de ces calculs et la relation infection-maladie n'est pas prise en compte.

Risque d'infection journalier	Entérovirus
Agriculteur 1 a	$4,1 \cdot 10^{-2}$ ( $4,1 \cdot 10^{-2}$ )

*Tableau 28 : impact de la relation dose-réponse (valeurs hautes) sur les résultats de risque d'infection journalier de l'agriculteur 1a par les Entérovirus.*

Pour l'ordre de grandeur des doses qui sont utilisées pour calculer les risques liés aux entérovirus, le jeu de valeurs des paramètres de la relation dose-réponse des entérovirus n'a aucun impact sur le résultat d'évaluation des risques d'infection.

Le jeu de paramètres utilisé dans le tableau suivant pour Salmonella non typhi est  $\alpha = 0,1817$  et  $\beta = 56,39$  (WHO/FAO, 2002).

Risque d'infection journalier	Décroissance minimum dans l'environnement
Agriculteur 1 a	$8,7 \cdot 10^{-3}$ ( $7 \cdot 10^{-3}$ )

*Tableau 29 : impact de la relation dose-réponse (valeurs hautes) sur les résultats de risque d'infection journalier de l'agriculteur 1a par Salmonella non typhi.*

Pour l'ordre de grandeur des doses qui sont utilisées pour calculer les risques liés aux salmonelles non typhi, le jeu de valeurs hautes des paramètres de la relation dose-réponse a un léger impact sur le résultat d'évaluation des risques d'infection.

### 2.5.3.3. LES SCENARIOS D'EXPOSITION

Les scénarios d'exposition qui ont été étudiés sont basés sur des hypothèses majorantes (envol d'aérosols de boues liquides non traitées épandues avec une rampe d'aspersion équipée de buses en présence de vent et érosion des boues suite à un épisode de pluie + vent) qui ne sont pas représentatives des conditions « normales » d'épandage.

Par ailleurs, 2 phénomènes n'ont pas été pris en compte :

- la décroissance des pathogènes résultant du stockage des boues (scénarios 1, 2 et 3),
- les pertes dans l'environnement dues au lessivage des végétaux lors de la pluie pour les scénarios 2 et 3.

Les risques sont donc surestimés par rapport à la réalité.

En outre, les hypothèses de dispersion du scénario 2 sont très incertaines. Elles sont le fruit d'un jugement d'expert destiné à encadrer le risque lié à l'émission d'aérosols en l'absence de données réelles. Elles nécessiteraient d'être validées par une campagne de mesure des aérosols prenant en compte les

caractéristiques des boues et du matériel d'épandage, les conditions de déroulement de l'épandage en fonction de l'éloignement des habitations et de la météorologie. En effet, d'après la littérature (chapitre 3.4.2.3 du rapport), aucun Entérovirus ou salmonelle n'a été détecté dans l'air lors d'un épandage de boues liquides en conditions peu ventées.

Ensuite, la prise en compte de la décroissance des pathogènes dans le sol et les végétaux est très simplifiée, elle n'a pas fait l'objet d'une recherche approfondie des distributions des valeurs des paramètres de décroissance, le but de l'étude étant d'estimer un ordre de grandeur du risque. Une évaluation plus fine aurait ainsi pu étudier l'impact des conditions environnementales sur le risque pathogène.

En ce qui concerne l'agriculteur, la quantité de poussières ingérée par jour utilisée dans les calculs (216 mg/j) correspond à l'utilisation d'un tracteur ouvert. Dans le cas où l'agriculteur utilise un tracteur fermé, la quantité de poussières ingérée par jour diminue à 12 mg/j d'après les données SOFRAB (2002) et les hypothèses de volume respiratoire et durée d'exposition retenues (tableau 13). Les nouveaux résultats de risques obtenus à titre d'exemple pour l'agriculteur 1a dans cette situation sont présentés dans le tableau 30.

Pathogène	Risque d'infection pour l'agriculteur 1a
Entérovirus	$2,5 \cdot 10^{-3}$ ( $4,1 \cdot 10^{-2}$ )
Salmonella non typhi	$4 \cdot 10^{-4}$ ( $7 \cdot 10^{-3}$ )
<i>E. coli</i> O157 :H7	$4,7 \cdot 10^{-7}$ ( $8,5 \cdot 10^{-6}$ )
Cryptosporidium parvum	$6,7 \cdot 10^{-6}$ ( $1,2 \cdot 10^{-4}$ )

*Tableau 30 : impact de la quantité de poussières ingérées par l'agriculteur 1a sur les résultats de risque d'infection journalier.*

En prenant en compte l'utilisation d'un tracteur fermé, les niveaux de risque d'infection de l'agriculteur sont diminués d'un facteur 16,4 pour les Entérovirus à 18 pour *E. coli* O157.

Enfin, pour les scénarios 2 et 3, les calculs ont été réalisés à partir du **régime alimentaire d'une population agricole** qui mange « plus » qu'une population non agricole d'après les données CIBLEX (tableau 31). Par conséquent, les risques d'infection pour une population non agricole sont inférieurs aux risques calculés. L'impact de la prise en compte du régime alimentaire non agricole est présenté ci-dessous (tableau 32 et tableau 33) pour le scénario 2 (décroissance minimale dans les sols).

Quantités auto-consommées (g/j)	Régime alimentaire agricole	Régime alimentaire non agricole
Légumes-feuilles	31	12
Légumes-fruit	18	7
Légumes-racines (hors pommes de terre)	20	7
Fruits	41,5	16,5

Tableau 31 : quantités auto-consommées (g/j) d'après CIBLEX (ADEME, 2003).

Scénario 2 : riverains/retombées	Risque journalier J1-J30	Risque d'exposition répétée chaque jour pendant 1 mois
Entérovirus	$2,3 \cdot 10^{-2}$ - $1,2 \cdot 10^{-5}$ ( $5,4 \cdot 10^{-2}$ - $1,2 \cdot 10^{-5}$ )	$9,2 \cdot 10^{-2}$ ( $2 \cdot 10^{-1}$ )
Salmonelles	$1 \cdot 10^{-3}$ - $1,4 \cdot 10^{-5}$ ( $2,6 \cdot 10^{-3}$ - $1,4 \cdot 10^{-5}$ )	$8 \cdot 10^{-3}$ ( $1,9 \cdot 10^{-2}$ )
<i>E coli</i> O 157	$6,7 \cdot 10^{-6}$ - $5,1 \cdot 10^{-7}$ ( $1,7 \cdot 10^{-5}$ - $1,3 \cdot 10^{-6}$ )	$8,1 \cdot 10^{-5}$ ( $2,1 \cdot 10^{-4}$ )
C. parvum	$9,8 \cdot 10^{-5}$ - $2,5 \cdot 10^{-5}$ ( $2,5 \cdot 10^{-4}$ - $6,3 \cdot 10^{-5}$ )	$1,7 \cdot 10^{-3}$ ( $4,4 \cdot 10^{-3}$ )

Tableau 32 : impact de la prise en compte du régime alimentaire non agricole sur les résultats de risques d'infection, scénario 2.

Scénario 3 : riverains/retombées	Risque journalier J1-J30	Risque d'exposition répétée chaque jour pendant 1 mois
Entérovirus	$1,4 \cdot 10^{-7}$ - $7,8 \cdot 10^{-9}$ ( $1,4 \cdot 10^{-7}$ - $1,2 \cdot 10^{-8}$ )	$1,6 \cdot 10^{-6}$ ( $2,3 \cdot 10^{-6}$ )
Salmonelles	$2,4 \cdot 10^{-8}$ - $1 \cdot 10^{-8}$ ( $3,6 \cdot 10^{-8}$ - $1,5 \cdot 10^{-8}$ )	$5,1 \cdot 10^{-7}$ ( $7,6 \cdot 10^{-7}$ )
<i>E coli</i> O 157	$2,9 \cdot 10^{-11}$ - $1,6 \cdot 10^{-11}$ ( $4,3 \cdot 10^{-11}$ - $2,4 \cdot 10^{-11}$ )	$6,9 \cdot 10^{-10}$ ( $1 \cdot 10^{-9}$ )
C. parvum	$4,2 \cdot 10^{-10}$ - $3,8 \cdot 10^{-10}$ ( $6,2 \cdot 10^{-10}$ - $5,6 \cdot 10^{-10}$ )	$1,2 \cdot 10^{-8}$ ( $1,8 \cdot 10^{-8}$ )

Tableau 33 : impact de la prise en compte du régime alimentaire non agricole sur les résultats de risques d'infection, scénario 3.

L'impact du régime alimentaire sur les résultats d'infection pour le **scénario 2** est le suivant : quel que soit le pathogène, pour les populations à régime alimentaire « non agricole », le risque journalier d'infection le premier jour après l'épandage (J1) et le risque lié à une exposition répétée pendant 30 jours est environ 2,5 fois moindre que le risque pour les populations à régime alimentaire « agricole ».

Pour le **scénario 3**, l'impact de la prise en compte d'un régime alimentaire non agricole est le suivant : quel que soit le pathogène, le risque d'infection le premier jour après l'épandage (J1) et le risque d'infection résultant d'une exposition répétée chaque jour pendant 1 mois sont diminués d'un facteur 1,5.

#### **2.5.4. CONCLUSION**

En l'état des connaissances actuelles, pour l'épandage de boues liquides non traitées, ces calculs préliminaires ont montré que :

- Les doses d'exposition calculées à partir des scénarios étudiés sont très faibles, quelle que soit la personne exposée (agriculteur ou riverain) : à l'exception des salmonelles dans 2 cas particuliers (agriculteur 1a, décroissance minimale dans les sols et riverains retombées J1), les doses liées à l'ingestion de pathogènes en lien avec l'épandage des boues sont toujours inférieures à un pathogène/jour. Lors de l'épandage de boues liquides non traitées, l'exposition de l'agriculteur et du riverain sont jugées faibles en regard des doses rapportées lors d'épidémies d'origine alimentaire.
- Quelque soit le microorganisme considéré, les risques d'avoir au moins une infection sur la durée d'exposition calculés pour les cibles se hiérarchisent ainsi :  
**scénario 2 > scénario 1a > scénario 1b > scénario 3**
- A l'exception du scénario 1b pour lequel le risque lié aux salmonelles est plus fort que celui lié aux entérovirus, quelque soit le scénario envisagé, les risques d'avoir au moins une infection sur la durée d'exposition calculés pour les cibles se hiérarchisent comme suit :

**Entérovirus > salmonelle > *Cryptosporidium parvum* > E. coli O 157**

Les calculs de risque reposent sur des hypothèses majorantes et tendent donc à surestimer les risques sanitaires d'infection calculés.

Par ailleurs, l'approche d'évaluation quantitative des risques est entachée de nombreuses incertitudes reposant principalement sur les relations doses-réponses des pathogènes (pertinence de leur application à la matrice boue) et aux données de survie des pathogènes dans l'environnement. Il est impossible, en l'état des connaissances actuelles de quantifier ces incertitudes.

### 3. EVALUATION DES RISQUES LIES A LA PRESENCE DE PRIONS DANS LES BOUES D'ABATTOIRS DE BOVINS

Concernant la transmission du prion, agent infectieux de l'encéphalopathie spongiforme bovine et de la tremblante des ovins/caprins, via les boues, très peu de choses sont connues sur :

- Sa présence dans les boues : bien que le prion soit extrêmement résistant à la température (seule l'application d'une chaleur humide de 130°C (3 bars) pendant 20 minutes permet de le détruire), la réglementation (Règlement (CE) n°1774/2002 du Parlement européen et du Conseil du 3 octobre 2002 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine) a permis une chute de l'endémie française d'ESB (AFSSA, 2003c) ;
- Sa survie dans l'environnement (EC, 2001) ;
- Sa dose infectieuse : Gale (1998) a supposé que la dose infectante pour l'homme  $DI_{50}$  est égale à 1 g de MRS (Matériels à Risque Spécifié) contaminé par le prion. De plus, les auteurs ont démontré que, suivant un modèle dose-réponse exponentiel négatif, le risque pour un individu peut être calculé comme  $0,69 \times$  fraction  $DI_{50}$  ingérée. Ce modèle suppose qu'il n'y a pas de seuil de dose et que les prions agissent indépendamment pendant l'infection.

Une étude financée par l'agence de l'environnement du Royaume Uni et de l'Irlande (DNV Technica 1997), sur le risque théorique de BSE via l'environnement à l'exception de la chaîne alimentaire a conclu que le risque estimé était très faible. L'exposition maximale individuelle par cette voie a été estimée à  $10^{-6}$  d'une dose infectieuse par an.

L'estimation, au niveau français, de la concentration en prion des boues issues d'abattoirs à partir d'une chaîne d'hypothèses (figure 4) permet de calculer une  $DI_{50}$  de 0,0001 éq humain/t MS.

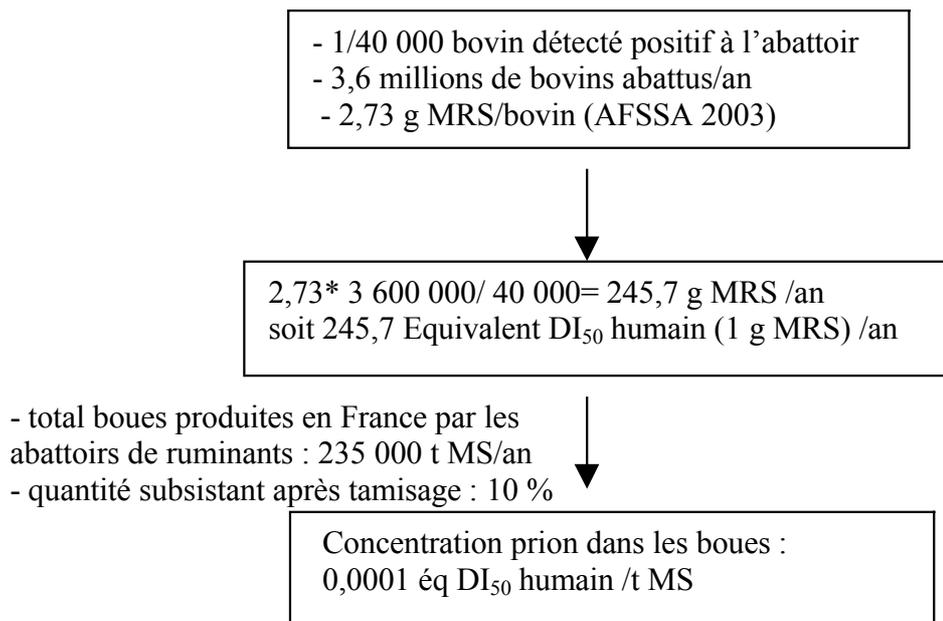


Figure 4 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation de la concentration du prion dans les boues françaises produites par des abattoirs de bovins.

En 2001, Gale a proposé une démarche d'évaluation de risque pour l'homme via l'ingestion de végétaux racines ayant été cultivés sur un champ épandu par des boues contaminées par le prion. La démarche repose sur une chaîne d'hypothèses dont les principales sont les suivantes :

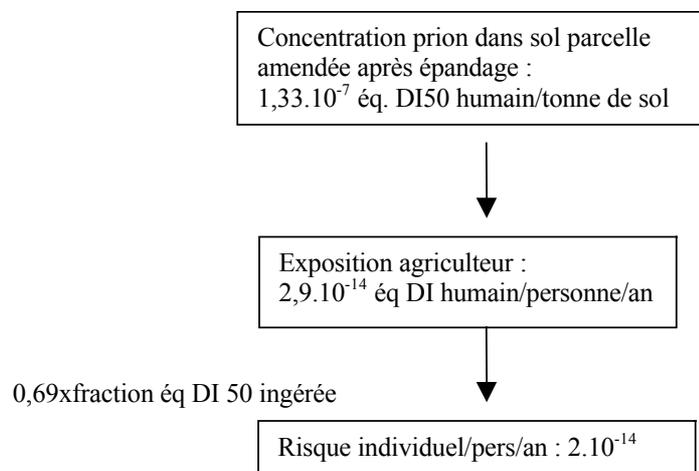
- 1% du total des MRS des animaux abattus annuellement entre dans le système de traitement des eaux usées,
- pas de destruction du pouvoir infectieux du prion pendant le traitement des boues,
- pas de lessivage sur les sols,
- pas de dégradation dans le sol.

L'application de cette démarche anglaise aux données françaises pour estimer le risque d'infection journalier lié à l'épandage de ces boues est présentée dans les figures suivantes (figure 5 à figure 8).

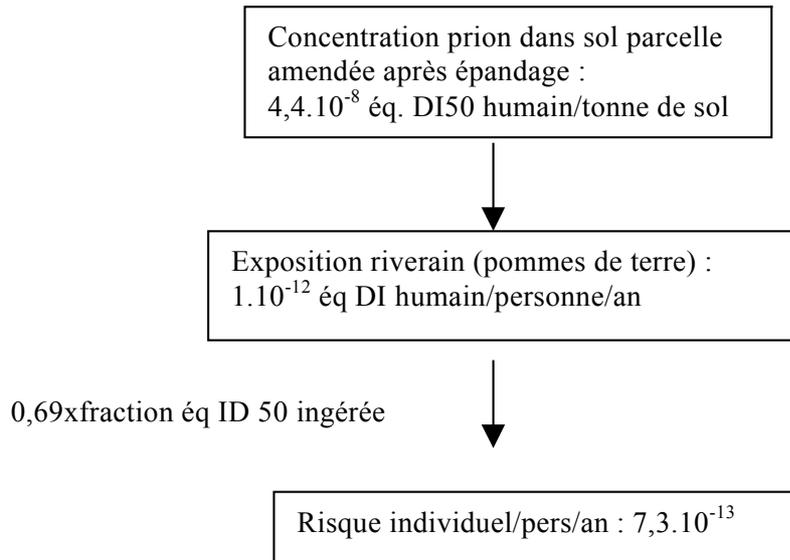
Quatre scénarios sont envisagés :

- agriculteur ingérant des poussières de sol le premier jour après épandage lors de l'enfouissement des boues (scénario 1a) ;
- riverain ingérant chaque jour pendant 1 an des pommes de terre (quantités totales) provenant de la parcelle amendée. **C'est un scénario « pire cas »** ;
- riverain ingérant chaque jour pendant 1 mois des légumes-feuilles, légumes fruits et fruits (quantités auto-consommées) contaminés par retombées atmosphériques d'aérosols de boues (utilisation de rampes d'aspersion équipées de buses et condition de vent défavorable) sur son jardin potager et ingérant des poussières de sol du jardin lors de son activité de jardinage (scénario 2) ;
- riverain ingérant chaque jour pendant 1 mois des légumes-racines (quantités auto-consommées) cultivés sur son jardin potager et contaminés par érosion de la parcelle amendée (pluie + vent) et ingestion des poussières de sol lors de son activité de jardinage (scénario 3).

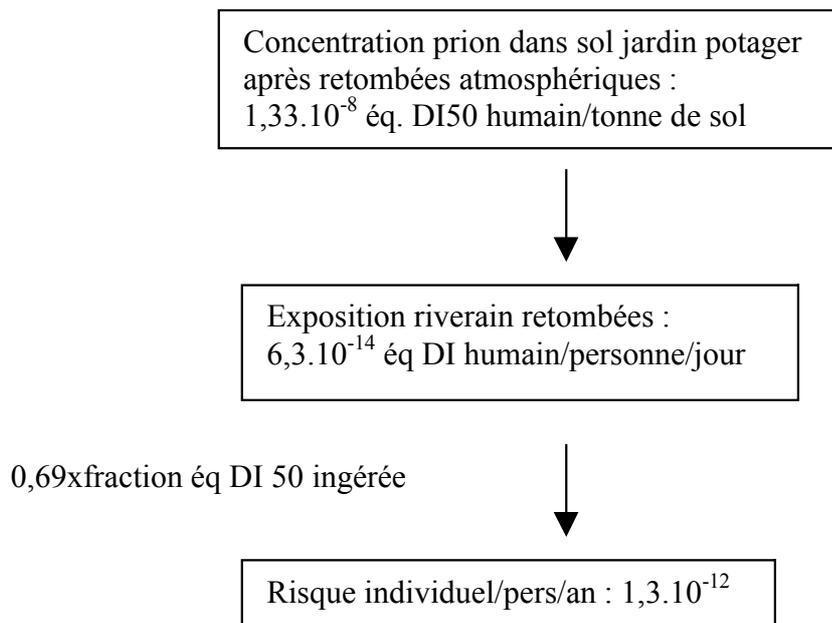
Les valeurs des paramètres d'exposition sont les mêmes que celles utilisées au tableau 13 ; pour les pommes de terres, la consommation journalière totale est estimée à 65 g/j (CIBLEX, 2003) et pour les légumes racines la quantité auto-consommée qui prend en compte les pommes de terres est estimée à 70 g/j dont 50 g/j de pommes de terre.



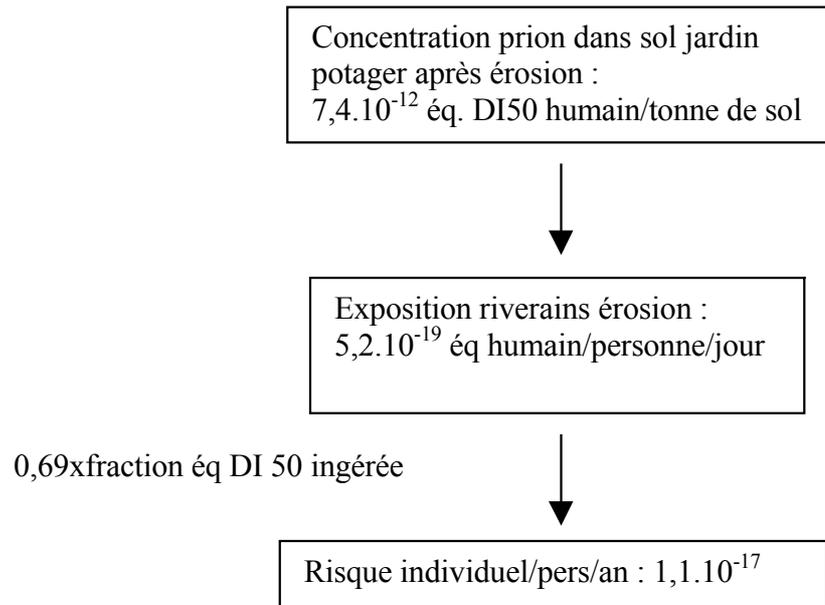
*Figure 5 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation du risque d'infection lié au prion dans les boues pour l'agriculteur.*



*Figure 6 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation du risque d'infection lié au prion dans les boues pour le riverain consommant des pommes de terres provenant de la parcelle amendée.*



*Figure 7 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation du risque d'infection lié au prion dans les boues pour le riverain consommant des végétaux contaminés par retombées des aérosols des boues.*



*Figure 8 : chaîne d'hypothèses pour l'estimation du risque d'infection lié au prion dans les boues pour le riverain consommant des végétaux racines contaminés par érosion de la parcelle amendée.*

Cette démarche permet de calculer le risque individuel extrêmement faible de :

- $2 \cdot 10^{-14}$  pour l'agriculteur,
- $7,3 \cdot 10^{-13}$  pour le riverain consommant toute l'année des pommes de terres provenant exclusivement de la parcelle amendée,
- $1,3 \cdot 10^{-12}$  pour le riverain consommant pendant un mois des végétaux de son jardin potager contaminés par des retombées atmosphériques d'aérosols de boues,
- $1,1 \cdot 10^{-17}$  pour le riverain consommant pendant un mois des légumes racines de son jardin potager contaminés par érosion des sols de la parcelle amendée.

## 4. REFERENCES

---

ACGIH (2003). TLVs and BEIs, threshold limit values for chemical substances and physical agents & biological exposure indices.

ADEME (1999). Epandage de boues d'épuration sur prairies et cultures fourragères. Aspects microbiologiques.

AFSSA (2000). Actualisation de l'évaluation du risque sanitaire lié à *Listeria monocytogenes* au stade de la distribution commerciale.

AFSSA (2002). Rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : évaluation scientifique des risques liés à *Cryptosporidium sp.*

AFSSA (2003). Risque sanitaire au regard de l'ESB liés aux rejets dans l'environnement des effluents et boues issus d'abattoirs et d'équarrissages: 34.

AFSSA (2003a). Appréciation des risques alimentaires liés aux campylobacters, application au couple poulet / *Campylobacter jejuni*. Paris.

AFSSA (2003b). Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (*STEC*).

AFSSA (2003c). L'ESB en France : synthèse sur l'évolution de l'épizootie à partir des données disponibles au 1er janvier 2003.

Berg G., Bergman D. (1980). Destruction by anaerobic mesophilic and thermophilic digestion of viruses and indicator bacteria indigenous to domestic sludges. *Applied and Environmental Microbiology*, p 361-368

Bigras-Poulin, M. (2004). "Development of agroenvironmental indicators to evaluate the hygienic pressure of livestock production of human health." *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 207: 279-295.

Brouillard, C. (2003). Sélection des agents biologiques prioritaires à prendre en compte dans l'évaluation des risques liés au retour au sol des déchets organiques d'origine urbaine en France métropolitaine et dans les DOM-TOM. Tome 1 et tome 2. Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP.

Cardiergues, B. (2000). Boues d'épuration et microorganismes pathogènes : influence de différents traitements et du stockage. *Biologie et Santé*. Nancy, Université Henri Poincaré, Nancy I: 240 p

Chapron, C. (2000). "The detection of *Astrovirus* in sludge biosolids using an integrated cell culture nested PCR technique." *Journal of Applied Bacteriology* 89(1): 11-15.

Chauret, C., S. Springthorpe, et al. (1999). "Fate of *Cryptosporidium* oocysts, *Giardia* cysts, and microbial indicators during wastewater treatment and anaerobic sludge digestion." *Can. J. Microbiol.* 45: 257-262.

CIBLEX (2003). Banque de données de paramètres descriptifs de la population française au voisinage d'un site pollué. ADEME / IRSN, version 0 de juin 2003.

Coleman M. (1998). "Topics in dose-response modelling." *Journal of Food Protection* 61(11): 1550-1559.

Deglin, S. (2002). Epandage des boues de stations d'épuration de ruminants: quel risque microbiologique ? Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP.

- Déléry, L. (2003). Données disponibles pour l'évaluation des risques liés aux bioaérosols émis par les installations de stockage des déchets ménagers et assimilés, rapport INERIS pour le ministère de l'Environnement.
- DNVTechnica (1997). Overview of risks from BSE via environmental pathways. London.
- Dumontet, S. (2001). "The importance of pathogenic organisms in sewage and sewage sludge." J. Air & Waste Manage. Assoc. **51**: 848-860.
- EC (2001). Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction, European Commission: 44p
- Gale, P. (1998). "Quantitative BSE risk assessment: relating exposure to risk." Letters in Applied Microbiology **27**: 239-242.
- Gale, P. et G. Stanfield (2001). "Towards a quantitative risk assessment for BSE in sewage sludge." Journal of Applied Bacteriology **91**: 563-569.
- Gale, P. (2003). "Using event tree to quantify pathogen levels on root crops from land application of treated sewage sludge." the Society for applied microbiology **94**: 35-47.
- Gale, P. (2005). "Land application of treated sewage sludge: quantifying pathogen risks from consumption of crops." Journal of applied Bacteriology **98**(2): 380-396
- Garrec, N. (2003). Détection et étude de la survie de *Listeria monocytogenes* dans les boues d'épuration destinées à l'épandage. Thèses de microbiologie fondamentale et appliquée. Angers, Ecole doctorale d'Angers: 169p.
- Gerba, C. (2002). "A risk assessment of emerging pathogens of concern in the land application of biosolids." Water Science and Technology **46**(10): 225-230.
- Haas, C. (1999). Quantitative microbial risk assessment, John Wiley & Sons, inc.
- Haas, C. N., J. Rose, et al. (1993). "Risk assessment of virus in drinking water." Risk analysis **13**(5): 545-552.
- Heederick, D. et J. Douwes (1997). "Towards and occupational exposure limit for endotoxins ?" Ann Agric Environ Med **4**: 17-19.
- InVS (2001). Epidémie de gastro-entérites à germes multiples liée à la consommation de l'eau de distribution Gourdon, Lot (47), août septembre 2000.
- InVS (2004). Epidémie de gastro-entérite en Isère, novembre 2002.
- Jones, P. (1980). "The occurrence and significance to animal health of salmonellas in sewage and sewage sludge." J. Hyg. Camb. **84**: 47-62.
- Kato, S., E. Fogarty, et al. (2003). "Effect of aerobic and anaerobic digestion on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Ascaris suum* eggs." International Journal of Environmental Health Research **13**: 169-179.
- Koenraad (1994). "Survey of *Campylobacter spp.* in sewage plants in the Netherlands." Food Microbiology **11**: 65-73.
- Latimer, H. (2001). "A weighted composite dose-response model for human salmonellosis." Risk analysis **21**(2): 295-305.

- Lee K.M., Brunner C.A., Farrell J.B., Erarp A.E.(1989). "Destruction of enteric bacteria and viruses during Two phase digestion" *Journal WPCF*, Vol 61, p 1421-1429
- Lemarchand, K. et P. Lebaron (2003). "Occurrence of *Salmonella spp.* and *Cryptosporidium spp.* in a French coastal watershed: relationship with fecal indicators." *FEMS Microbiology Letters* **218**: 203-209
- Linklater, K. et M. Graham (1985). "Salmonellae in sewage sludge and abattoir effluent in south-east Scotland." *J. Hyg. Camb.* **94**: 301-307.
- Madeline, M. (2003a). Evaluation du risque sanitaire (parasitaire et virologique) des boues résiduaires urbaines en agriculture et des eaux épurées dans l'environnement. *Sciences pharmaceutiques*, université de Caen.
- McLauchlin, J. (2004). "Listeria monocytogenes and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods." *International Journal of Food Microbiology* **92**: 15-33.
- Monpoého, S. (2001). Quantification génomique de 2 virus entériques (entérovirus et HAV) dans els boues de stations d'épuration. Estimation de l'impact sanitaire lié à leur valorisation agricole. *chimie biologie*. Nantes, Faculté de Pharmacie: 177.
- NANCIE (2000). "Micropolluants organiques et germes pathogènes dans les boues d'eaux résiduaires."
- NRC (2002). *Biosolids applied to land: advancing standards and practices*, The national Academies Press.
- Oscar, T. (2004). "Dose-response model for 13 strains of *Salmonella*." *Risk analysis* **24**(1): 41-49.
- p\_PEP.PROCEDE (2000). Evaluation du risque paraistaire sur le bassin de la Seine et connaissance des facteurs influant.
- Pompée, E. (2003). Evaluation des risques sanitaires biologiques liés à l'épandage de boues issues d'abattoirs de porcs et de volailles: étude de faisabilité dans le contexte français. Rennes, mémoire élève ingénieur sanitaire ENSP.
- RECORD (2003). Etat des connaissances sur les micro-organismes dans la filière déchets.
- Regli, S., J. B. Rose, et al. (1991). "Modeling the risk from Giardia and viruses in drinking water." *J. Am Water Works Asso* **83**: 76-84.
- Robertson, L. J. (2000). "Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts at sewage treatment works in Scotland, UK." *Water Research* **34**(8): 2310-2322.
- Rose, J. (1997). "Environmental ecology of *Cryptosporidium* and public health implications." *Annu. Rev. Public Health* **18**: 135-161.
- Sahlstrom, L. (2004). "Bacterial pathogen incidences in sludge from Swedish sewage treatment plants." *Water Research* **38**: 1989-1994.
- Schwartzbrod, J. et al. (2002). Parasitic protozoa : fate in wastewater treatment plants. *Encyclopedia of environmental microbiology*. Wiley.
- Teunis, P. (1996). The dose-response relation in human volunteers for gastro-intestinal pathogens. Bilthoven, The Netherlands, Rijkinstituut voor volksgezondheid en milieu

- Teunis, P. (1999). "Dose response models for infectious gastroenteritis." Risk analysis **19**(6): 251-259.
- Teunis, P. (2002). "*Cryptosporidium* dose responses studies : variation between hosts." Risk Analysis **22**(3): 475-485.
- Teunis, P. (2002). "Risk assessment for protozoan parasites." International Biodeterioration & Biodegradation **50**: 185-193.
- Teunis, P. (2004). "Dose response for infection by *Escherichia coli* O157: H7 from outbreak data." Risk analysis **24**(2): 401-407.
- Thiriat, L. (1998). Valorisation agricole des boues résiduelles : dénombrement des kystes de *Giardia sp.* et estimation de leur impact sur le risque sanitaire. biologie et santé. Nancy, Henri Poincaré: 231p.
- Udeh, P. et J. Veenstra (2003). "Field inactivation of oocysts exposed to agricultural land." water, Air and Soil Pollution **142**: 211-228.
- UKWIR (2000). Methods for the detection of pathogens in biosolids, UK Water Industry Research.
- UKWIR (2003). Pathogens in biosolids- Microbiological risk, UK Water Industry Research, Environmental Agency, DEFRA.
- USEPA (1991a). Preliminary risk assessment for bacteria in municipal sewage sludge applied to land.
- USEPA (1991b). Preliminary risk assessment for parasites in municipal sewage sludge applied to land.
- USEPA (1992). Preliminary risk assessment for viruses in municipal sewage sludge applied to land.
- USEPA (1999). Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge, Office of Research and Development.
- Vernozy-Rozand, C. et M.-P. Montet (2001). Evaluation du danger lié à la présence des *Escherichia coli* vérotoxiques dans des prélèvements environnementaux : effluents d'élevage et boues de STEP. Marcy l'Etoile, Ecole vétérinaire de Lyon: 29p
- Wanatabe, T., D. Sano, et al. (2002). "Risk evaluation for pathogenic bacteria and viruses in sewage sludge compost." Water Science and technology **46**(11): 325-330.
- WERF (2003). A dynamic model to assess microbial health risks associated with beneficial uses of biosolids : phase 1, Water Environment Research Foundation.
- WHO/FAO (2002). Microbiological Risk Assessment Series 2, Risk Assessments of *Salmonella* in Eggs and Broiler Chickens - 2.