

Impact du traitement biologique du lisier de porcs sur les germes d'intérêt sanitaire : exemple de 17 élevages bretons

Anne-Marie POURCHER (1,2), Philippe FRAVALO (3), Patrick DABERT (1)

(1) CEMAGREF, Unité de Recherche Gestion environnementale et traitement biologique des déchets
17, avenue de Cucillé, 35044 Rennes cedex

(2) Université d'Angers, Laboratoire Paysages et Biodiversité, 2 boulevard Lavoisier, 49045 Angers cedex 01

(3) AFSSA, Unité Hygiène et qualité des produits avicoles et porcins, BP 53, 22440 Ploufragan

anne-marie.pourcher@cemagref.fr

Avec la collaboration technique de A. LABBE (3) et de Y. LE NOTRE (3)

Impact du traitement biologique du lisier de porcs sur les germes d'intérêt sanitaire : exemple de 17 élevages bretons

L'étude a pour objectif d'évaluer le pouvoir assainissant des technologies actuelles de traitement biologique du lisier sur cinq micro-organismes d'intérêt sanitaire. Quarante prélèvements ont été réalisés dans 17 élevages porcins bretons représentant cinq filières de traitement qui consistent soit en un simple stockage du lisier brut, soit en des traitements plus complexes destinés à éliminer l'azote et le phosphore. Quatre types de matrices ont été analysés : le lisier brut non traité, la phase solide du lisier brut obtenue après séparation mécanique, les boues issues du traitement biologique, stockées en fosse ou en décanteur, la phase liquide du lisier traité, stockée en lagune après décantation. L'effet hygiénisant des traitements a été évalué par le dénombrement d'indicateurs de traitement (entérocoques, *Escherichia coli* et *Clostridium perfringens*) et la recherche de deux germes pathogènes (*Salmonella* et *Listeria monocytogenes*).

L'étude met en évidence quatre résultats majeurs : i) une variabilité des concentrations en germes indicateurs dans les lisiers bruts, indépendante de la durée de stockage, ii) une différence de survie des germes indicateurs au cours des traitements, iii) un effet inhibiteur des filières de traitement sur l'ensemble des germes et iv) la présence de *Salmonella* et de *L. monocytogenes* dans les lisiers bruts et leurs sous-produits destinés à l'épandage. Bien que les traitements biologiques appliqués au lisier entraînent un abattement des *E. coli* et des entérocoques, ils sont insuffisamment efficaces pour éliminer totalement les salmonelles et *L. monocytogenes*. Il existe donc un risque potentiel de dissémination des germes pathogènes lors de l'épandage.

Impact of biological treatment of manure on micro-organisms of sanitary interest: example of 17 piggeries in Brittany

The aim of the study was to evaluate the antimicrobial effectiveness of biological treatment of manure on five micro-organisms of sanitary interest. Forty samples were taken from 17 piggeries located in Brittany. Five types of treatment were compared. They consisted either of a simple storage of the raw manure, or a more complex treatment designed for the removal of nitrogen and phosphorus. Four types of material were analyzed: the raw manure, the solid phase of the manure obtained from a mechanical separation, the sludge from the biological treatment, (subsequently stored in a pit or settling tank) and the liquid phase of the treated manure, (stored in a lagoon after settling). The impact of the treatments was evaluated by the enumeration of treatment indicators (enterococci, *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens*) and the detection of two pathogenic bacteria (*Salmonella* and *Listeria monocytogenes*). The study highlighted four major results: i) a variability of the concentrations of indicator bacteria in the raw manures independently of the storage period, ii) a different survival of the indicator bacteria through the treatments, iii) an inhibiting effect of all types of treatment on these same bacteria, and iv) the presence of *Salmonella* and *L. monocytogenes* in the raw manures and in their by-products intended for land spreading. Although the biological treatments makes it possible to decrease the level of *E. coli* and enterococci, they do not achieve complete sanitisation of the by-products. As a consequence, there remains a significant risk of spreading the pathogenic bacteria during the land application operation.

INTRODUCTION

Au delà des problèmes visibles, comme les odeurs et la pollution chimique des eaux, l'épandage du lisier peut présenter un danger pour la santé humaine et animale par la présence de micro-organismes pathogènes tels que *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica* (Guan et Holley, 2003), *Cryptosporidium* (Bornay-Llinares et al., 2006) ou *Ascaris suum* (Nansen et al., 1999). Ainsi, l'épandage peut représenter une voie d'entrée non négligeable de germes pathogènes dans la chaîne alimentaire humaine. En effet, il a été observé une persistance de micro-organismes pathogènes dans les sols après l'épandage d'effluents d'élevages (Gessel et al., 2004 ; Hutchison et al., 2004 ; Nicholson et al., 2005). Le risque sanitaire est particulièrement important lorsque le lisier est épandu sur des sols destinés à recevoir des cultures de végétaux consommés crus (Guan et Holley, 2003 ; Nicholson et al., 2005).

Il est possible d'estimer le danger sanitaire par la recherche de germes pathogènes ou le dénombrement de bactéries entériques et par l'évaluation de leur persistance au travers des filières de traitement. Trois groupes bactériens sont généralement retenus comme indicateurs de traitement : *E. coli*, les entérocoques intestinaux et *Clostridium perfringens*. Les études menées sur l'effet des procédés de traitement mettent en évidence l'implication de plusieurs facteurs sur la survie des micro-organismes entériques. Ainsi les conditions du traitement biologique aérobie ou anaérobie, le degré d'aération, la température, ou encore le traitement physique tel que la séparation solide/liquide semblent influencer la persistance des micro-organismes entériques présents dans les effluents d'élevage (Placha et al, 2001 ; Hutchison et al, 2005a). Toutefois, la plupart des études concernant la survie des germes entériques au cours du traitement du lisier ont été effectuées sur des systèmes artificiels tels que des pilotes de laboratoire (Turner et al., 2002, Juteau et al., 2004 ; Zhang et al, 2004 ; Hutchison et al, 2005a ; Vanotti et al, 2005) ou lors d'un entreposage inerte du lisier sans apport de lisier frais (Placha et al, 2001) ou encore avec des ensemencements artificiels de bactéries (Placha et al, 2001, Turner, 2002, Hutchison et al., 2004 ; Nicholson et al, 2005, ; Hutchison et al, 2005a).

Cette étude a pour objectif d'évaluer le pouvoir assainissant des technologies actuelles de traitement du lisier de porcs par le dénombrement ou la recherche de germes d'intérêt sanitaire en entrée et sortie de filières.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Types de traitement et prélèvements

Quarante prélèvements ont été réalisés dans 17 élevages porcins bretons (notés de B à R) représentant cinq filières de traitement. Elles consistent soit en un simple stockage du lisier brut en fosse pendant une période de 6 à 9 mois (type 0), soit en des traitements plus complexes destinés à éliminer, d'une part l'ammoniac et les nitrates, d'autre part le phosphore (types 1 à 4) :

- type 0 : Le lisier est stocké dans un bassin qui est homogénéisé au moment de l'épandage.
- types 1 et 2 : ils comprennent un bassin de stockage du lisier et un réacteur d'aération suivi d'un ouvrage de stockage (type 1) ou de décantation (type 2) qui permet de séparer les boues

de la phase liquide issue du traitement biologique. La phase liquide est alors stockée dans une lagune.

- type 3 : Ces installations sont équipées comme celles de type 2, mais possèdent un système de séparation du lisier brut en amont du réacteur qui permet d'éliminer une partie du phosphore retenu sur les matières en suspension.
- type 4 : Ces filières présentent des caractéristiques identiques à celles de type 3 mais le système de décantation situé après le réacteur biologique a été remplacé par un système de filtration qui permet d'extraire les boues biologiques et de les retourner en tête du séparateur de phase mécanique placé en amont du réacteur de traitement.

Les prélèvements analysés proviennent de quatre types de matrices :

- lisier brut non traité, stocké en pré-fosse ou en fosse,
- phase solide du lisier brut, appelée refus de séparation, obtenue après séparation par décanteur centrifuge,
- boue stockée en fosse ou en décanteur et provenant d'un traitement biologique,
- phase liquide du lisier traité, stockée en lagune après décantation.

1.2. Analyses bactériologiques

Les micro-organismes analysés correspondent aux indicateurs de traitement (*E. coli*, entérocoques et *C. perfringens*) et à deux germes pathogènes (*Salmonella sp.* et *Listeria monocytogenes*). Après homogénéisation, l'échantillon est transvasé dans trois flacons de un litre afin d'obtenir une série de triplicat par analyse. A partir de chaque flacon de un litre, un volume de 10 mL ou un poids de 10 g est prélevé et transféré dans 90 mL d'eau peptonée tamponnée. Cette première dilution est ensuite diluée au dixième dans des tubes de 9 mL d'eau peptonée.

E. coli est dénombré par l'ensemencement de Petrifilm™ «Select E. coli» incubé 24 heures à 44°C. La présence de *E. coli* (colonies bleues, glucuronidase positives) est confirmée par le repiquage de quelques colonies par Petrifilm™ en eau peptonée exempte d'indole afin de mettre en évidence la production d'indole.

Les entérocoques sont dénombrés par étalement des dilutions appropriées sur le milieu de Slanetz et Bartley (Biokar) qui est incubé 48 heures à 37°C. Les colonies caractéristiques ayant réduit le Triphenyl 2.3.5 Tetrazolium Chloride sont repiquées sur une gélose Bile Esculine Agar (Biokar). Après 4 heures d'incubation à 44°C, les colonies esculine positives sont dénombrées.

Le dénombrement des spores de *C. perfringens* est réalisé par une méthode dérivée de la norme AFNOR V08-056 (Anonyme, 1999) selon le protocole décrit par Pourcher et al. (2007). Les salmonelles sont recherchées selon le protocole de la norme AFNOR XP X33-018 (Anonyme, 2004). La présence de *L. monocytogenes* est mise en évidence par un enrichissement en milieu One Broth (OXOID) suivi d'un isolement sur gélose ALOA (AES laboratoire). Les colonies de *L. monocytogenes* apparaissent bleues entourées d'un halo par la mise en évidence de la β glucosidase et de l'activité de la phospholipase C. Les colonies typiques sont ensuite repiquées sur le milieu Rapid'L. Mono (Bio-Rad) pour confirmation. Les colonies caractéristiques de *L. monocytogenes* sont conservées sur une gélose non sélective et confirmées par la mise en évidence du

gène de virulence *hlyA*, spécifique de cette espèce pathogène selon un protocole adapté des travaux de Bohnert et al. (1992). Les souches de *L. monocytogenes* et de salmonelles après conservation ont été sérotypées à l'AFSSA. Le sérotypage des salmonelles est réalisé selon le schéma de Kauffmann-White. Le sérotypage des *L. monocytogenes* est effectué par la recherche des antigènes somatiques et flagellaires par des techniques d'agglutination.

2. RESULTATS

Les analyses bactériologiques réalisées sur les effluents des différentes exploitations porcines mettent en évidence une forte variabilité des concentrations en germes indicateurs d'un élevage à l'autre dans les lisiers bruts et dans les boues destinées à l'épandage (Figure 1). Ainsi, les lisiers bruts contiennent 2×10^2 à $1,4 \times 10^5$ *E. coli* et $1,8 \times 10^3$ à 3×10^5 entérocoques g^{-1} MB (Matière Brute). Toutefois, cette variabilité est indépendante de la durée de stockage du lisier puisque les concentrations en germes indicateurs ne diffèrent pas significativement entre les lisiers stockés moins de 30 jours et ceux correspondant à une durée de stockage supérieure à 6 mois.

Les concentrations observées dans les boues qui fluctuent de $4,2 \times 10^1$ à 1×10^3 *E. coli* g^{-1} MB et de $9,7 \times 10^1$ à $6,4 \times 10^3$ entérocoques g^{-1} MB sont significativement plus faibles ($p < 0,05$) que celles des lisiers. Le traitement de l'effluent brut qui associe une digestion aérobie et un stockage des boues entraîne donc un abattement des deux germes indicateurs compris entre 1,3 et 2 unités logarithmiques tandis que l'abattement le plus important est observé entre le lisier brut et les eaux de lagunes (Tableau 1).

Cet effet est moins marqué pour les entérocoques dont les concentrations dans les boues sont significativement plus importantes ($p < 0,001$) que celles de *E. coli*, traduisant un comportement différent des deux indicateurs au cours du traitement. La différence de comportement est encore plus prononcée pour *C. perfringens* dont les concentrations moyennes ne diffèrent pas significativement entre les lisiers bruts et les boues (Figure 2).

Les sous-produits correspondant aux refus de centrifugation et aux eaux de lagunes sont les plus faiblement contaminés avec des concentrations en germes indicateurs inférieures à 5×10^2 bactéries g^{-1} MB.

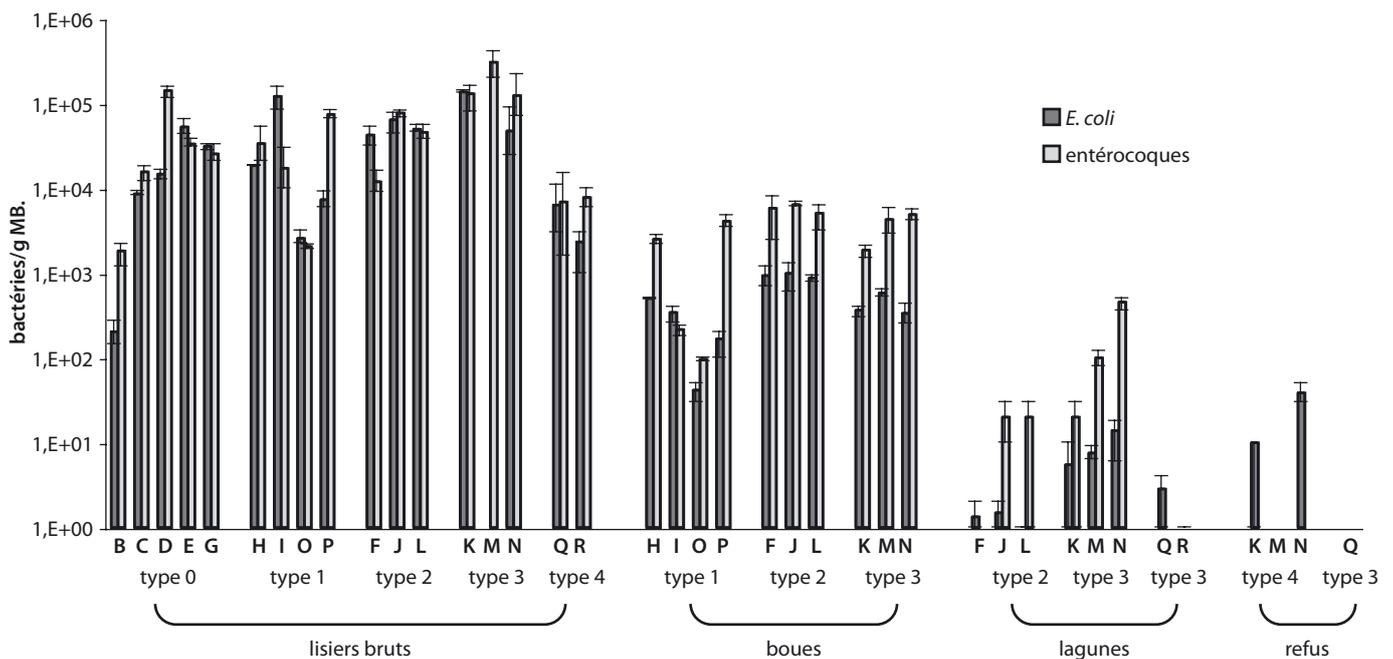


Figure 1 - Concentrations en *E. coli* et en entérocoques dans les lisiers et sous-produits issus du traitement. Les barres indiquent les valeurs minimales et maximales observées.

Tableau 1 - Effet des traitements sur les 3 indicateurs

Matrices comparées	Abattement (en \log_{10})		
	<i>E. coli</i>	entérocoques	spores de <i>C. perfringens</i>
lisier/ boues (types 1 à 4)	1,95	1,3	<0,1
boues/ lagune (types 2 et 3)	2,1	1,5	2,3
lisier / refus (types 3 et 4)	> 3,1	>3,8	>2,7
lisier/ lagune (types 2 à 4)	>4,4	>4,6	>3,4

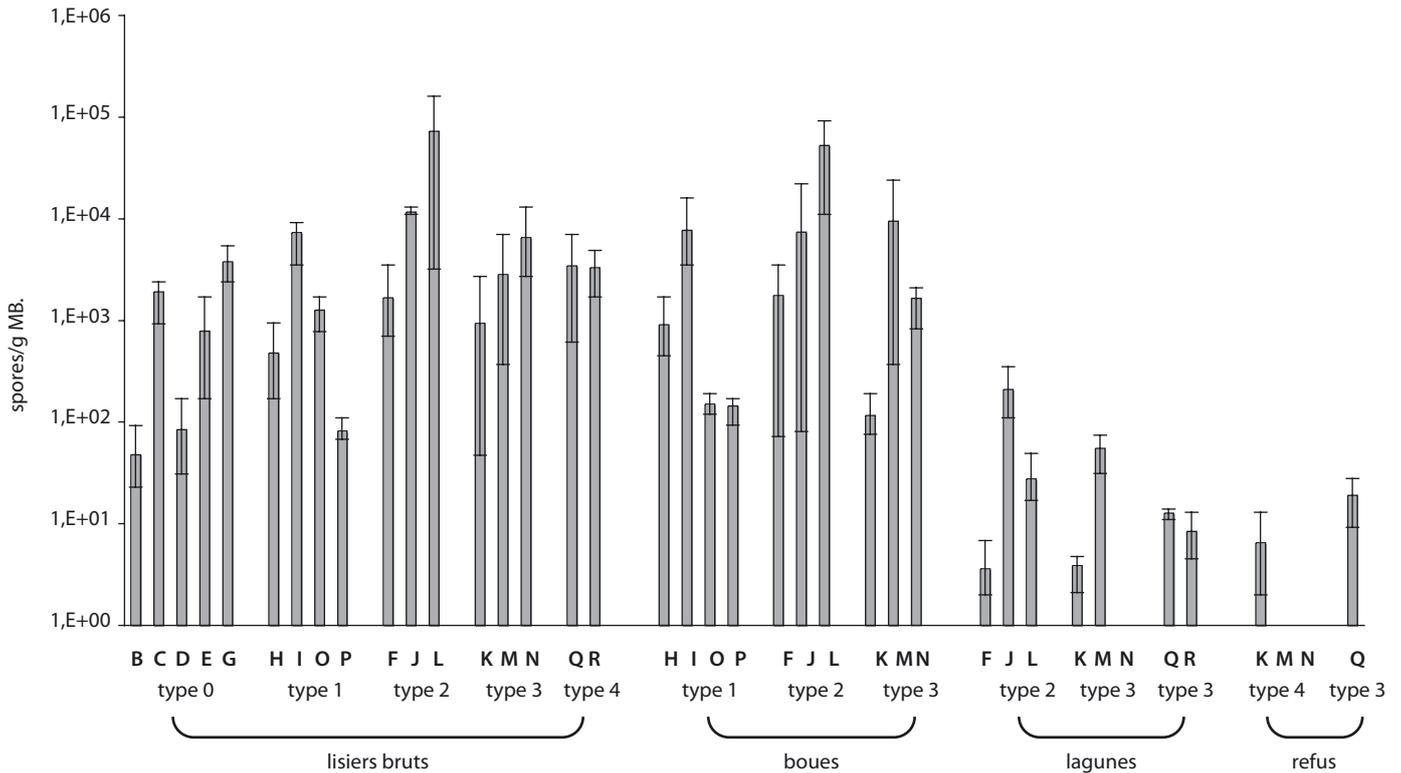


Figure 2 - Concentrations en spores de *C. perfringens* dans les lisiers et sous-produits issus du traitement. Les barres indiquent les valeurs minimales et maximales observées.

Tableau 2 - Concentrations en *Salmonella* (g^{-1} MB) et prévalence de *L. monocytogenes* dans les lisiers bruts et les sous produits de 17 élevages

traitement	matrice	nb éch. ^a	<i>Salmonella</i> / g moyenne (EC) ^b	Fréquence de détection en %	
				<i>Salmonella</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Stockage en fosse (type 0)	lisier brut	5	2,8 (5,5)	80	0
Stockage en fosse (types 1 à 4)	lisier brut	12	0,3 (0,35)	50	42
Digestion aérobie et stockage	boues	10	0,03 (0,004)	20	20
Décantation	eaux de lagunes	8	-	0	0
Centrifugation	refus solide	4	-	0	0

^a nombre d'échantillons ; ^b écart type

Salmonella et *L. monocytogenes*, retrouvées dans le lisier brut et dans une moindre mesure dans les boues, n'ont pas été détectées dans les lagunes et les refus de séparation (Tableau 2).

Salmonella a été détectée dans 59 % des lisiers bruts à des concentrations ne dépassant pas 3 bactéries g^{-1} MB et dans 20 % des boues épandues. *L. monocytogenes* a été mise en évidence dans 29 % des lisiers bruts et a également été retrouvée dans 20 % des boues.

3. DISCUSSION

3.1. Teneurs en germes indicateurs dans les effluents d'élevages porcins

Les fluctuations des concentrations en germes indicateurs observées entre les élevages, de l'ordre de 2 unités logarithmiques, sont en accord avec les données de la littérature. Ainsi, les

teneurs en coliformes fécaux ou en *E. coli* varient selon les études de 10^2 à 10^6 bactéries par gramme de lisier (Hill et Sobsey, 2003 ; Chinivasagam et al., 2004 ; Vanotti et al., 2005 ; Côté et al., 2006). La durée de stockage du lisier brut en fosse ne semble pas influencer le nombre de germes indicateurs qui ne varie pas significativement entre les périodes de stockage courtes (<1 mois) et longues (de 6 à 9 mois). Les travaux effectués par Côté et al. (2006) montrent que le temps estimé pour une absence de détection des *E. coli* initialement présents à une concentration de 10^3 à 10^4 germes g^{-1} dans du lisier stocké est de 54 à 114 jours. Hutchison et al. (2005a) qui ont ensemencé artificiellement des micro-organismes d'origine entérique dans du lisier stocké, ont aussi observé une disparition progressive des bactéries avec un abattement de 3 \log_{10} après 2 mois de stockage. La persistance des germes indicateurs dans les boues, même après 9 mois de stockage, n'est cependant pas surprenante dans la mesure où les fosses sont remplies séquentiellement. Les fosses correspondant aux élevages de type 0 reçoivent donc réguliè-

rement du lisier frais issus de pré-fosses ce qui induit obligatoirement une surestimation de la survie des germes comme l'ont souligné Hutchison et al. (2005b).

Indépendamment du niveau initial en germes indicateurs, l'effet cumulatif de la digestion aérobie du lisier suivie du stockage entraîne un niveau de concentration plus faible dans les boues destinées à l'épandage. L'abattement des concentrations est plus élevé pour *E. coli* que pour les entérocoques. Il faut toutefois souligner que *E. coli* n'est pas toujours l'indicateur le plus sensible. Ainsi, Placha et al. (2001) rapportent une survie des entérocoques inférieure à celle des coliformes fécaux dans la fraction solide d'un lisier maintenu à 21-22°C alors que Pourcher et al. (2005) ont observé une survie identique des deux indicateurs au cours du compostage de boues de station d'épuration.

Enfin, même s'il est observé une diminution des germes au cours des traitements et ceci, quelles que soient les études citées dans la littérature, il est difficile d'énoncer des règles générales d'efficacité des traitements. Ainsi pour les 10 élevages de types 1 à 4 possédant un traitement biologique de l'azote, les abattements des concentrations entre les lisiers bruts et les boues stockées varient de 1,6 à 2,6 \log_{10} pour *E. coli* et de 0,3 à 1,9 \log_{10} pour les entérocoques sans que l'on puisse associer ces différences aux types de procédés de traitement.

Si les différences de concentrations entre les lisiers et les boues sont relativement faibles, les deux autres sous-produits sont en revanche nettement moins contaminés. Six des huit lagunes étudiées présentent des concentrations en *E. coli* et en entérocoques inférieures à 21 germes mL⁻¹. Les 2 autres lagunes sont plus concentrées mais les teneurs en indicateurs ne dépassent pas 4,5 10² germes mL⁻¹. L'abattement global des concentrations des deux indicateurs entre les lisiers bruts et les lagunes varie de 3,4 à 5,5 selon les élevages. L'absence ou la très faible teneur des deux indicateurs peut s'expliquer par l'action conjuguée de plusieurs facteurs tels que la durée du stockage dans la lagune qui excède 9 mois, la faible quantité d'éléments nutritifs, défavorable à la croissance des germes entériques, l'effet inhibiteur des UV, ou la présence d'une chaîne trophique comprenant notamment des protozoaires bactériophages.

L'abattement important des germes (>2,7) dans les refus solides est probablement dû aux températures élevées, de l'ordre de 70°C, relevées lors des prélèvements.

L'absence d'abattement des spores de *C. perfringens* et leur présence dans les lagunes et dans 3 des 4 refus de séparation confirme la plus grande résistance de ces germes au cours du traitement du lisier comme l'ont observé Hill et Sobsey (2003).

3.2. Teneurs en *Salmonella* et prévalence de *L. monocytogenes* dans les effluents d'élevages porcins

Salmonella, pathogène couramment associé au porc, a été détectée à une fréquence de 59 % dans les lisiers bruts, ce qui est en accord avec les données de la littérature. Ainsi, Chinivasagam et al. (2004) et Watabe et al. (2003) ont isolé ce germe dans 31 % et 71,4 % des lisiers analysés. Les concentrations en *Salmonella* dépendent de nombreux facteurs, ce qui explique la variabilité de la présence de cette bactérie dans

les différents élevages. Selon Fablet et al. (2003), les facteurs ayant le plus d'influence sur la survie des salmonelles sont la température et le temps de stockage mais les facteurs tels que le pH et la concentration en NH₃ semblent aussi jouer un rôle (Hutchinson et al., 2005a). La présence de *Salmonella* dans 20 % des boues est en accord avec les données de Hutchinson et al. (2005) et Pourcher et al. (2006) qui ont également montré que *Salmonella* était capable de résister au traitement biologique du lisier. Par ailleurs, Placha et al. (2001) ont observé que ce germe, ensemencé artificiellement dans la fraction solide du lisier peut survivre 36 jours en été et 85 jours en hiver. Les sérotypes des souches de *Salmonella* isolées des lisiers correspondent majoritairement à *Salmonella* Derby (retrouvé dans 40 % des lisiers analysés). Quatre autres sérotypes (Infantis, Hadar, Anatum et Typhimurium) ont été mis en évidence mais avec une fréquence ne dépassant pas 10 %. Ces résultats confirment la prédominance du sérotype Derby, fréquemment retrouvé dans les élevages porcins (Corrégé et al., 2002).

La présence de *L. monocytogenes* dans 29 % des lisiers et dans 20 % des boues reflète sa capacité à survivre au traitement. Contrairement aux salmonelles qui ont été largement étudiées, les données sur la survie de *L. monocytogenes* dans les lisiers sont rares et concernent le comportement des souches ensemencées artificiellement. Ainsi Hutchison et al. (2005b) qui ont ensemencé *Salmonella* et *L. monocytogenes* dans du lisier stocké en cuve ont observé une survie similaire des deux germes. Enfin, il est important de souligner que les souches de *L. monocytogenes* isolées des différents élevages appartiennent à 3 sérotypes 1/2a, 4b et 4e dont 2 (sérotypes 1/2a et 4b) sont fréquemment impliqués dans les cas de listériose humaine (Farber et Peterkin, 1991).

CONCLUSION

Les traitements appliqués aux effluents d'élevages porcins, initialement mis en place pour éliminer l'azote et le phosphore permettent un abattement de la charge bactérienne, sans toutefois obtenir une hygiénisation complète. L'étude met en évidence 4 résultats majeurs :

- une variabilité des concentrations en germes indicateurs dans les lisiers bruts, indépendante de la durée de stockage,
- une différence de survie des trois germes indicateurs au cours des traitements ;
- un effet inhibiteur des quatre filières de traitement sur l'ensemble des germes,
- la présence dans les lisiers et leurs sous-produits destinés à l'épandage de germes pathogènes présentant des sérotypes impliqués dans les toxi-infections alimentaires (*Salmonella* Typhimurium, Infantis, Hadar et *L. monocytogenes* 1/2a, 4b et 4e)

Si les traitements biologiques et physiques appliqués au lisier entraînent bien un abattement des *E. coli* et des entérocoques, ils ne sont cependant pas suffisants pour éliminer totalement les salmonelles et *L. monocytogenes* ce qui implique l'existence d'un risque potentiel de dissémination des germes pathogènes.

REMERCIEMENTS

Cette étude a bénéficié du soutien financier de l'ADEME et de l'AFSSET.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anonyme, 1999. V08-056. Microbiologie alimentaire - Dénombrement des *Clostridium perfringens* par comptage des colonies à 37 degrés Celsius - Méthode de routine. 14 pages. AFNOR, France.
- Anonyme, 2004. XP X33-018. Caractérisation des boues - Dénombrement des *Salmonella* - Méthode de dénombrement en milieu liquide (méthode du Nombre le Plus Probable - NPP). 20 pages. AFNOR, France
- Bohnert, M., F. Dilasser, C. Dalet, J. Mengaud, Cossart P., 1992. Use of Specific Oligonucleotides for Direct Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Food Samples by Colony Hybridization and Rapid Detection by PCR. Res. in Microbiol., 143, 271-280.
- Bornay-Llinares F.J., Navarro-i-Martinez L., Garcia-Orenes F., Araez H., Perez-Murcia M.D., Moral R., 2006. Detection of intestinal parasites in pig slurry: A preliminary study from five farms in Spain. Livestock Science, 102 (3), 237-242.
- Chinivasagam, H. N., Thomas R. J., Casey K., McGahan E., Gardner E. A., Rafiee M., Blackall P. J., 2004. Microbiological status of piggery effluent from 13 piggeries in the south east Queensland region of Australia. J. Appl. Microbiol., 97, 883-891.
- Corrége I., Proux K., Fravallo P., Cornou C.1, Flého J.Y., 2002 Les salmonelles en élevage porcin : caractérisation et rôle épidémiologique du statut des cochettes. Journées Rech. Porcine, 34, 309-315.
- Côté C., Villeneuve A., Lessard L., Quessy S. 2006. Fate of pathogenic and non pathogenic microorganisms during storage of liquid hog manure in Quebec. Livestock Science 102 (3), 204-210.
- Fablet C., Beloeil P.A., Fravallo P., Jolly J. P, Eveno E. Hascoet Y., Salvat G., Madec F., 2003 Etude des circonstances associées à l'excrétion de *Salmonella enterica* par les porcs en croissance. Journées R. Porcine 35, 401-408.
- Farber, J. M., Peterkin P.I., 1991 *Listeria monocytogenes*, a Food-Borne Pathogen. Microbiol. Reviews 55, 476-511.
- Gessel P.D., Hansen N.C., Goyal S.M., Johnston L.J., Webb J., 2004. Persistence of zoonotic pathogens in surface soil treated with different rates of liquid pig manure. Appl. soil Ecol., 25 (3), 181-276.
- Guan T.Y., Holley R. A., 2003. Pathogen Survival in Swine Manure Environments and Transmission of Human Enteric Illness-A review. J. Environ. Quality, 32, 383-392.
- Hill, V. R., Sobsey M. D., 2003. Performance of swine waste lagoons for removing *Salmonella* and enteric microbial indicators. Transactions of the Asae, 46, 781-788.
- Hutchison M.L., Walters L.D., Moore A., Crookes K.M., Avery S.M., 2004. Effect of length of time before incorporation on survival of pathogenic bacteria present in livestock wastes applied to agricultural soil. Appl. Environ. Microbiol., 70 (9), 5111-5118.
- Hutchison M.L., Walters L.D., Moore A., Avery S.M., 2005a. Declines of zoonotic agents in liquid livestock wastes stored in batches on-farm. J. Appl. Microbiol., 99 (1), 58-65
- Hutchison, M.L, Walters L.D., Avery S.M., Munro F., Moore A., 2005b. Analyses of livestock production, waste storage, and pathogen levels and prevalences in farm manures. Appl. Environ. Microbiol., 71, 1231-1236
- Juteau P., Tremblay D., Ould-Moulaye C.B., Bisailon J.G., Beaudet R., 2004. Swine waste treatment by self heating aerobic thermophilic bioreactors. Water Res., 38, 539-546
- Nansen P., Roepstorff A. , 1999. Parasitic helminths of the pig: factors influencing transmission and infection levels. Int J. Parasitology., 29 (6), 877-891.
- Nicholson F.A., Groves S.J., Chambers B. J., 2005. Pathogen survival during livestock manure storage and following land application. Bioresource Tech., 96 (2), 135-143.
- Placha I., Venglovsky J., Sasakova N., Svoboda I. F., 2001. The effect of summer and winter seasons on the survival of *Salmonella Typhimurium* and indicator micro-organisms during the storage of solid fraction of pig slurry. J. of Appl. Microbiol., 91 (6), 1036-1043.
- Pourcher A.M., Morand P., Picard-Bonnaud F., Billaudel S. , Montpoeho S., Federighi M., Ferré V., G. Moguedet. 2005. Decrease of enteric micro-organisms from rural sewage sludge during their composting in mixture with straw. J. Appl. Microbiol., 99 (3), 528-539.
- Pourcher A.M., Aktouche N., Côté C., Rousseau P., Godbout S, Martinez J., 2006. Behaviour of enteric micro-organisms in Canadian and French swine manure treatments. 12th RAMIRAN International Conference. Aarhus 11th-13th sept 2006. 4 p.
- Pourcher A.M., Picard-Bonnaud F., Ferré V., Gosinska A., Stan V., Moguedet G., 2007. Survival of faecal indicators and enteroviruses in soil after land-spreading of municipal sewage sludge. Applied Soil Ecology, 35 (3), 473-479.
- Turner C., 2002. The thermal inactivation of *E-coli* in straw and pig manure. Bioresource Tech., 84 (1), 57-61.
- Vanotti M.B, Millner P.D., Hunt P.G., Ellison A.Q., 2005. Removal of pathogen and indicator microorganisms from liquid swine manure in mufti-step biological and chemical treatment. Bioresource Tech., 96 (2), 209-214.
- Watabe, M., Rao J. R., Stewart T. A., Xu J., Millar B. C., Xiao L., Lowery C. J., Dooley J. S. G., Moore J. E., 2003. Prevalence of bacterial faecal pathogens in separated and unseparated stored pig slurry. Letters in Appl. Microbiol., 36, 208-212.
- Zhang R.H., Yang P., Pan Z., Wolf T.D., Turnbull J.H. 2004. Treatment of swine wastewater with biological conversion, filtration, and reverse osmosis: A laboratory study. Transactions of the Asae, 47 (1), 243-250.