

Hygiénisation d'un lisier de porc par un procédé de traitement thermique en continu :

évaluation de l'impact de différentes températures sur la persistance d'indicateurs bactériens et viraux

Charles CUNAUULT (1,2), Anne-Marie POURCHER (1), Colin BURTON (1)

(1) Cemagref, Rennes, France- Université Européenne de Bretagne, Rennes, France

(2) Ecole des Métiers de l'Environnement, Bruz, France

anne-marie.pourcher@cemagref.fr

Sanitation of pig slurry by a continuous thermal treatment: evaluation of the impact of different temperatures on the persistence of bacterial and viral indicators

Heat treatment is an interesting process as it allows the use of the available energy in animal waste and recovers the heat produced. The objective of this study was to evaluate the performance of a thermal pilot plant on *E. coli*, enterococci, Sulphite-Reducing-Clostridia (SRC), F+ specific and somatic phages. The slurry is heated through two heat exchangers and maintained for 10 minutes at the chosen temperature by passing the flow through a retention unit. The effectiveness of heat treatment was tested for five temperatures (55 to 96°C). Identification of colonies that survived the heat treatment was performed after amplification and sequencing of the 16S rDNA. Ten minutes at 70°C were sufficient to reduce the vegetative bacteria by 4-5 log₁₀ but had little effect on somatic phages or on the spore-formers, dominated by *Clostridium* sp. At 96°C, somatic phages were still detected and there was a reduction of 3.1 log₁₀ for SRC. The results of this study show that vegetative forms of mesophilic pathogenic bacteria can be removed when the slurry is heated at 60 °C for 1 hour or 70°C for 10 minutes. Treatment at low cost is possible due to heat recovery.

INTRODUCTION

Le stockage des effluents d'élevage a peu d'impact sur les bactéries pathogènes (Hutchison *et al.*, 2004, 2005). Actuellement, le cadre réglementaire relatif à l'aspect sanitaire du rejet des effluents vers le milieu naturel ne concerne que certains effluents ou leurs conditions de réutilisation. Cependant, lorsqu'il existe, celui-ci spécifie le plus souvent des valeurs limites de concentrations de certains micro-organismes indicateurs. Il est donc important de posséder des technologies de traitement des effluents permettant de réduire de façon conséquente les micro-organismes pathogènes. Dans ce contexte, une méthode de traitement thermique en continu du lisier de porcs a été évaluée.

1. MATERIEL ET METHODES

L'étude a été réalisée sur du lisier de porcs obtenu après centrifugation. Le principe de la méthode repose sur l'application d'un couple durée/température.

1.1. Description du pilote et localisation des prélèvements

Le système comprend deux échangeurs de chaleur (longueur 3 mètres, diamètre intérieur 9,5 mm), suivis d'une unité de rétention (longueur 125 mètres, diamètre intérieur 14,8 mm) (Figure 1). Le lisier brut est préchauffé dans le 1^{er} échangeur en utilisant la chaleur récupérée à partir du lisier traité. Il est chauffé à la température ciblée par de l'eau chaude dans le 2^{ème} échangeur. Le débit de circulation du lisier est de 115 L/h.

La durée de passage dans les échangeurs est de 75 secondes.

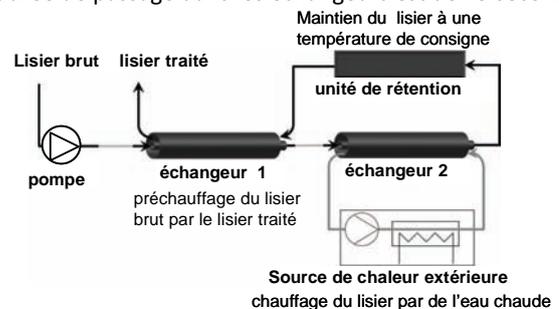


Figure 1 – Schéma de fonctionnement du pilote

Le lisier est maintenu à la température ciblée pendant 10 minutes dans l'unité de rétention. Il est ensuite refroidi lors de son passage dans le 1^{er} échangeur. Cinq températures ont été testées en triplicat : 55, 60, 70, 80 et 96°C. Deux couples durée/température qui sont reconnus pour être hygiénisants ont également été testés en batch sur le lisier prélevé en sortie d'unité de rétention : 55°C/3 jours et 70°C/1 heure. Les prélèvements ont été réalisés (i) sur le lisier brut, (ii) à la sortie du 2^{ème} échangeur, (iii) à la sortie de l'unité de rétention et (iv) après maintien en bain-marie (pour 55 et 70°C).

1.2. Analyses microbiologiques

Les phages ARN F-spécifiques et les phages somatiques ont été dénombrés selon les normes ISO 10705-1 et ISO 10705-2. *E. coli* et les entérocoques ont été dénombrés respectivement par un ensemencement du milieu TBX (Biokar) et du milieu de

Slanetz et Bartley (Biokar) suivi d'un repiquage sur un milieu BEA (Biokar). Afin d'abaisser le seuil de détection, les deux indicateurs ont également été recherchés par un ensemencement des milieux Colilert®-18 et Enterolert™ (IDEXX). Les *Clostridium* Sulfite Réducteurs (CSR) ont été dénombrés par un ensemencement en simple couche du milieu TSC (Biokar) contenant 0,4 g/L de D-cyclosérine (Sigma-Aldrich). Trente-six colonies se développant sur le milieu TSC ont été repiquées et identifiées après séquençage de leur ADNr 16S. La limite de quantification des CSR et des phages était de 100 UFC (unité formant colonie) et de 100 UFP (unité formant plaque)/100 mL. La limite de détection de *E. coli* et des entérocoques était de 10 bactéries/100 mL.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les teneurs en indicateurs dans le lisier brut centrifugé ont très peu évolué au cours des essais excepté pour les phages ARN F-spécifiques qui ont présenté de fortes variations d'un essai à l'autre. Les teneurs moyennes en *E. coli*, entérocoques et CSR étaient de $2,8 \times 10^6$, $9,3 \times 10^6$ et $9,5 \times 10^6$ UFC/100mL, respectivement. Les teneurs moyennes en phages somatiques étaient de $2,9 \times 10^7$ UFP/100 mL. Les teneurs en phages ARN F-spécifiques étaient comprises entre moins de 100 et 7×10^5 UFP/100 mL. Les traitements à 55 et 60°C appliqués 10 minutes ont conduit à des abattements de *E. coli* d'au moins 4 et 5 log₁₀ respectivement alors qu'ils ont eu un effet moindre sur les entérocoques (Tableau 1).

Tableau 1 - Abattements moyens des concentrations en micro-organismes indicateurs (log₁₀/100mL) entre le lisier brut et le lisier traité thermiquement

indicateur	matrice	Températures en °C						
		55	55	60	70	70	80	96
		(3 j.) ^c			(1h.) ^c			
<i>E. coli</i>	LC ^a	1,5		3,7	5,5		>5,4	>5,5
	LT ^b	4,4	>5,4	>5,3	>5,5	>5,5	5,4	>5,5
entérocoques	LC	0,4		1,9	5,6		5,7	6,7
	LT	0,9	>5,7	3,4	>5,6	>5,6	>5,7	>6,7
CSR	LC	0,0		0,0	0,0		0,8	2,9
	LT	0,0	0,0	0,0	0,2	0,4	0,8	3,8
phages ARN F-spécifiques	LC	0,1		0,0	- ^d	-	>3,7	>3,8
	LT	0,4	>0,5	1,2	-	-	>3,7	>3,8
phages somatiques	LC	0,3		0,0	1,4		2,3	5,0
	LT	0,5	4,4	0,6	1,8	1,9	4,9	5,2

^a lisier à la sortie de l'échangeur 2 (chauffé 75s), ^b lisier à la sortie de l'unité de rétention (contact de 10 min.), ^c lisier traité maintenu 3 jours à 55°C ou 1 heure à 70°C; ^d non déterminé

La température de 55°C appliquée 10 minutes n'a réduit que de 1 log₁₀ les teneurs en entérocoques qui étaient encore détectés après 180 minutes (données non montrées).

Le temps de réduction décimale à 55°C pour les entérocoques a été estimé à 52 minutes. Cette valeur est du même ordre de grandeur que celles citées par Sörqvist (2003) pour

Enterococcus faecium. En s'appuyant sur ces données, il serait ainsi nécessaire de maintenir la température de 55°C pendant 260 minutes pour assurer une réduction de 5 log₁₀ des concentrations en entérocoques. A des températures de 70, 80 et 96°C, le chauffage seul de 75 secondes a été suffisant pour éliminer les deux indicateurs. Il convient de souligner que les bactéries pathogènes telles que *E. coli* O157:H7, *Salmonella* sp., ou *Yersinia enterocolitica* présentent des temps de réductions décimales plus faibles que ceux de *E. faecium* (Sörqvist 2003 ; Hutchison *et al.*, 2005). Il peut donc être supposé que les traitements efficaces pour l'élimination des entérocoques sont suffisants pour éliminer le risque sanitaire lié à ces bactéries pathogènes dont les concentrations dans le lisier de porcs ne dépassent pas en général 5 log₁₀/mL (Hutchison *et al.*, 2004, 2005). Aucune diminution significative des concentrations en CSR n'a été observée de 55 à 70°C, quelle que soit la durée du traitement. Un faible impact du traitement thermique apparaît à 80°C mais seule la température de 96°C appliquée 10 minutes a conduit à une diminution significative des teneurs en spores de 3,8 log₁₀. L'identification génotypique des colonies de CSR a confirmé leur appartenance au genre *Clostridium*. Parmi celles-ci, 42% ont été identifiées comme des *C. perfringens*. Cette espèce représente donc l'une des principales espèces capables de persister dans le lisier de porcs après les traitements à 55, 60 et 70°C. Les traitements à 55 et 60°C appliqués 10 minutes ont eu peu d'impact sur les phages (moins de 1,2 log₁₀).

Alors que les phages ARN F-spécifiques n'ont plus été détectés à 80 et 96°C, les phages somatiques étaient encore présents à ces deux températures. Les phages somatiques apparaissent donc plus résistants que les phages ARN F-spécifiques, qui étaient eux-mêmes plus résistants que les entérocoques. Ces résultats sont en accord avec ceux de Moce-Llivina *et al.* (2003) qui ont étudié l'effet d'un traitement thermique sur les bactériophages présents dans les boues d'épuration.

CONCLUSION

Les bactéries végétatives mésophiles pathogènes peuvent être éliminées par un traitement thermique en appliquant les couples durée/température de 55°C/260 minutes, de 60°C/1 heure ou de 70°C/1 minute.

Cependant, même la température de 96°C appliquée 10 minutes n'élimine pas les formes sporulées ni les phages somatiques. Si l'on ne considère que le risque associé aux formes végétatives, il peut être envisagé de traiter le lisier avec un système constitué d'une unité de rétention maintenant une température de 60°C pendant 1 heure ou de 70°C pendant dix minutes.

Bien que la récupération de chaleur ne soit pas optimisée à ces deux températures, le système permet néanmoins de récupérer 59 à 64% de la chaleur. Celle-ci pourrait atteindre 80% avec un récupérateur de chaleur plus efficace tels que ceux qui sont utilisés dans les systèmes industriels.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hutchison M.L., Walters L.D., Avery S.M., Munro F., Moore A., 2005. Analyses of livestock production, waste storage, and pathogen levels and prevalences in farm manures. *Appl Environ Microbiol*, 71, 1231-1236.
- Hutchison M.L., Walters L.D., Avery S.M., Synge B.A., Moore A., 2004. Levels of zoonotic agents in British livestock manures. *Lett Appl Microbiol*, 39, 207-214.
- Moce-Llivina, L., Muniesa, M., Pimenta-Vale, H., Lucena, F., Jofre, J. 2003. Survival of bacterial indicator species and bacteriophages after thermal treatment of sludge and sewage. *Appl Environ Microbiol*, 69(3), 1452.
- Sörqvist S., 2003. Heat Resistance in Liquids of *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. *Acta Vet Scand*, 44, 1-20.