

METHANISATION COLLECTIVE



Prend on un risque
sanitaire?

EXEMPLE « D'INFORMATION »

MÉTHANISATION ALSACE 2016 P1/8



La méthanisation en questions



...SIMPLE.

2 N'Y A-T-IL pas des risques sanitaires ?

Les micro-organismes impliqués dans la digestion anaérobie (sans oxygène) ne sont pas pathogènes c'est-à-dire n'ont aucun impact sur la santé et la méthanisation permet de réduire significativement la quantité de germes grâce à la mise en œuvre de traitements complémentaires : hygiénisation des intrants (chauffage à 70°C pendant 1 heure) et séchage thermique. Pour les plus grands sites, avant d'épandre le digestat, ce dernier doit faire l'objet d'un bilan agronomique décrivant sa composition.

PLUS RASSURANT?

L'ACCIDENTOLOGIE DE LA MÉTHANISATION

- Base de données ARIA du BARPI du Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement.
 - Relevé de l'accidentologie du SIAAP (syndicat interdépartemental pour l'assainissement)
- ➔ Explosions et/ou éclatements physiques, incendies, rejets de substances polluantes, intoxication de salariés au sulfure d'hydrogène...
- ➔ Mais rien ou presque sur le côté « sanitaire ».

ADEME 2011

250 pages !



QUALITÉ AGRONOMIQUE ET SANITAIRE

DES DIGESTATS

Octobre 2011

Etude réalisée pour le compte de l'ADEME et le Ministère de l'Agriculture par
RITTMO Agroenvironnement, Uteam, FIBL, INERIS, LDAR
Marché ADEME n° 0906C0053

Coordination technique : Fabienne MULLER – Service Prévention et Gestion
des Déchets – Direction Consommation Durable et Déchets – ADEME Angers



ADEME 2011

*Peu de chose
sur les agents
pathogènes...*

P 116/250 :

9.6 QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES DIGESTATS DE TOUTE ORIGINE

Les données récupérées n'étaient pas suffisantes pour réaliser une étude statistique de ces données.
Les informations présentées ci-après sont toutes tirées de la bibliographie.

...

C'est pourquoi des matières hygiéniquement douteuses peuvent être pasteurisées avant la méthanisation mésophile. Sinon, le digestat peut être chauffé de manière adéquate après la digestion avant d'être utilisé. Le couplage à un post-traitement aérobie de type compostage peut être une solution pour compléter l'hygiénisation du digestat.

Les agents pathogènes

Et de conclure :
P 121/250

La digestion anaérobie est un procédé qui permet la réduction des concentrations en germes pathogènes, avec une efficacité beaucoup plus importante en conditions thermophiles qu'en conditions mésophiles.

La digestion mésophile avec un taux d'abattement en pathogènes de l'ordre de 80 % n'assure pas forcément une hygiénisation suffisante pour prévenir le développement ultérieur des micro-organismes pathogènes lors du stockage. Une hygiénisation supplémentaire peut alors être apportée si nécessaire par un prétraitement ou un post traitement ad hoc (le compostage par exemple).

Le stockage d'au minimum un mois des digestats liquides diminue cependant nettement les risques de présence de germes pathogènes. Ces germes étant souvent apportés dans le lisier avec les co-substrats méthanisés (73).

Certaines bactéries ne seront que peu affectées en termes de réduction de leur population, par la méthanisation thermophile du fait de leur passage en formes résistantes. La sporulation notamment leur permet de résister aux températures de 55°C.

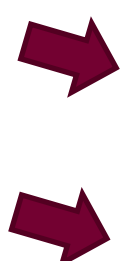
Il faut également préciser que la réglementation relative à l'épandage agricole des BTU n'exige pas une hygiénisation de ces BTU. En effet, la réglementation définit des règles d'usages des BTU en fonction de la qualité des matières à épandre.

ARRÊTÉ DU 13 JUIN 2017

Arrêté approuvant un **cahier des charges pour la mise sur le marché et l'utilisation de digestats de méthanisation agricole.** (p4/6)

Tableau 2 - Valeurs-seuils maximales en micro-organismes pathogènes

Les valeurs sont celles de la section 3, chapitre III, annexe V, du règlement (UE) n° 142/2011.



	Taille de la prise d'échantillon représentatif du produit	n	m	M	c
Echantillons représentatifs du produit					
Escherichia coli ou Enterococcaceae	1 g	5	1000	5000	1
Salmonella	25 g	5	0	0	0

Avec :

n = nombre d'échantillons à tester ;

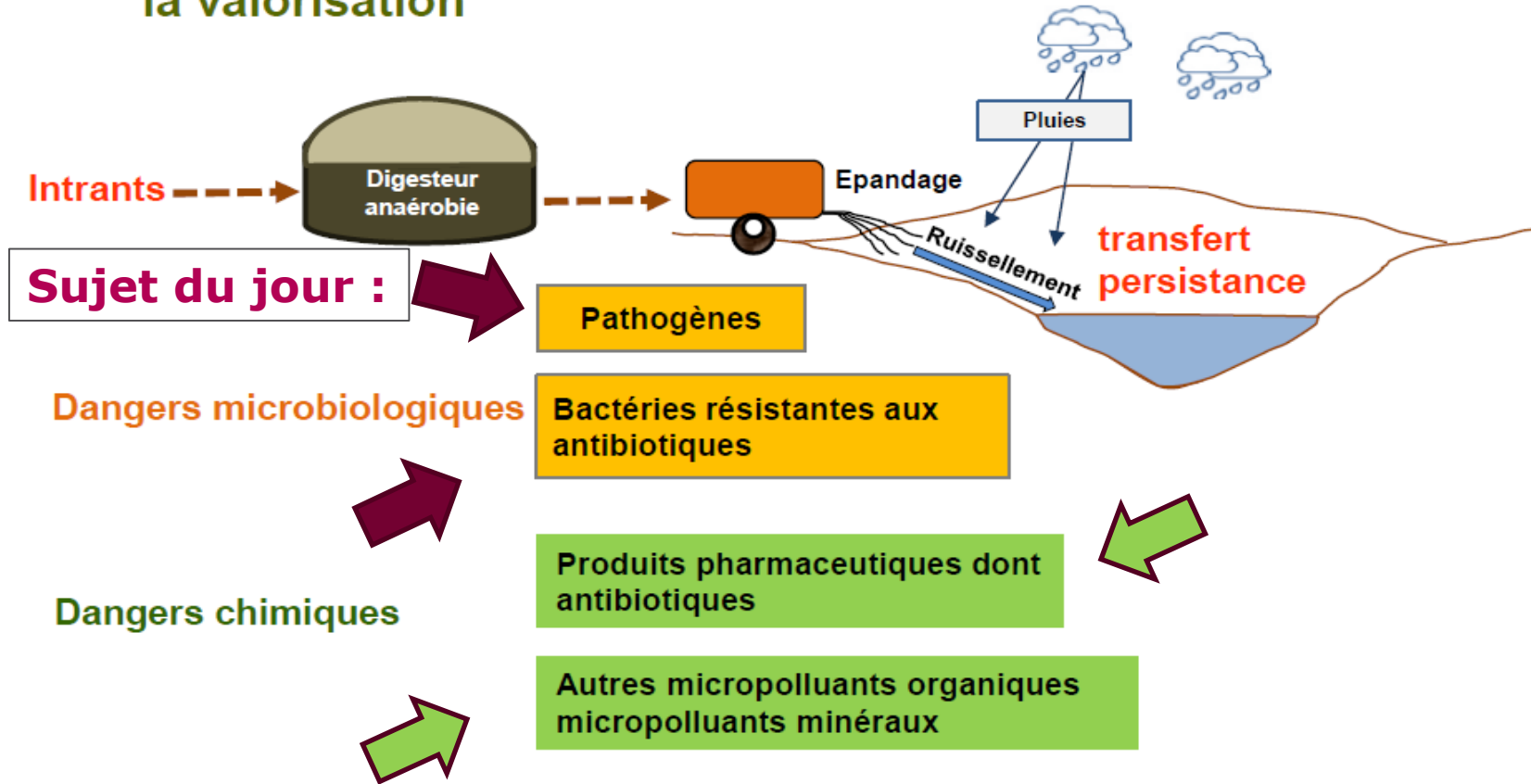
m = valeur-seuil pour le nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans la totalité des échantillons n'excède pas m ;

M = valeur maximale du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme non satisfaisant dès lors que le nombre de bactéries dans au moins un échantillon est supérieur ou égal à M ;

c = le nombre d'échantillons dans lesquels le nombre de bactéries peut se situer entre m et M, l'échantillon étant toujours considéré comme acceptable si le nombre de bactéries dans les autres échantillons est inférieur ou égal à m.

Éléments en entrée des méthaniseurs susceptibles d'avoir un impact sur la santé humaine et /ou animale

Risques potentiels sur la santé et l'environnement : un des obstacles à la valorisation



peu de données sur l'innocuité des digestats

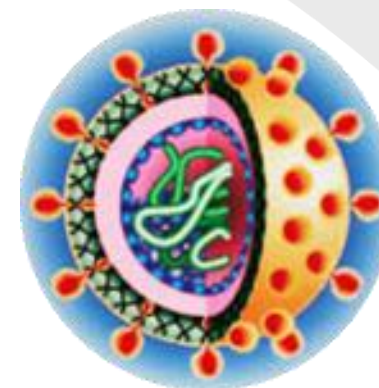
BREF RAPPEL :

DIVERS PATHOGÈNES ET LEUR SURVIE DANS LE MILIEU EXTÉRIEUR.

Durées moyennes...
Avec des écarts parfois très importants

Virus

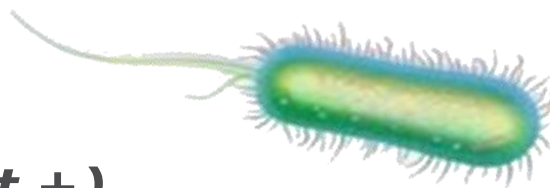
(survivent des heures et +)



<http://www.microbiologyonline.org.uk>

Bactéries

(survivent des semaines et +)



<http://tpe-penicilline1.e-monsite.com>

Parasites

(survivent des mois et +)



EXEMPLES DE VIRUS

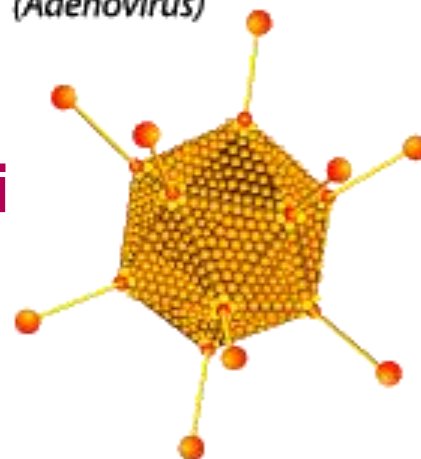
RESPONSABLES DE MALADIES EN ÉLEVAGE

Rotavirus : diarrhées
Coronavirus : diarrhées, respi
Parvovirus : diarrhées
IBR : respi, repro
BVD : respi, diarrhées, repro
SDRP : respi, repro
Etc.

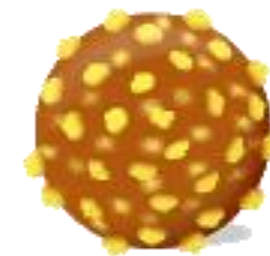
VIRAL SHAPES

<https://mrrittner.weebly.com/extras.html>

Polyhedral
(Adenovirus)



Spherical
(Influenza)



Helical
(Tobacco mosaic virus)



Complex
(Bacteriophage)

EX DE BACTÉRIES

RESPONSABLES DE MALADIES EN ÉLEVAGE

Les Salmonelles : diarrhées

Les *Escherichia coli* : diarrhées

***Clostridium botulinum* : botulisme**

***Bacillus anthracis* : charbon**

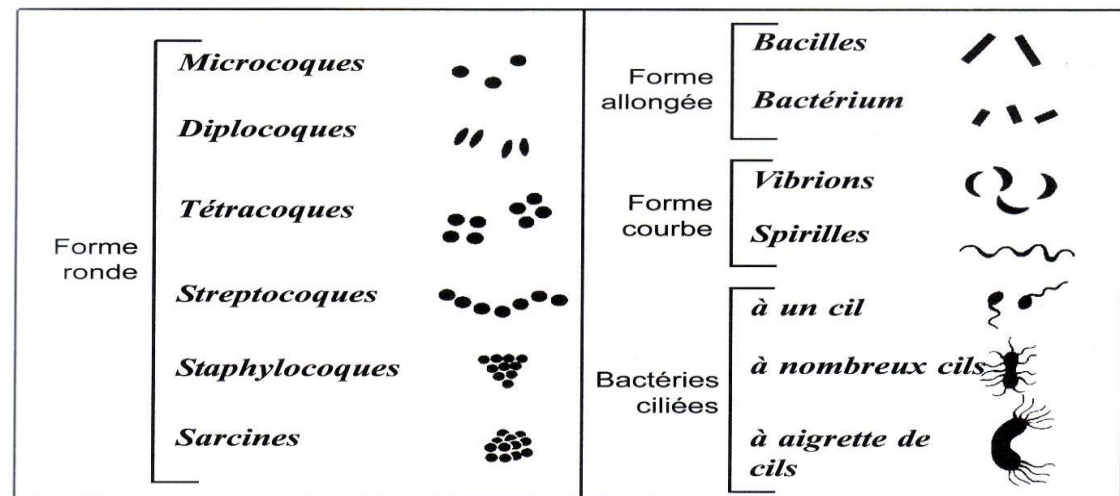
***Mycobacterium paratuberculosis* : paratuberculose bovine (diarrhée)**

***Listeria* : listériose (septicémie, repro, nerveux...)**

...

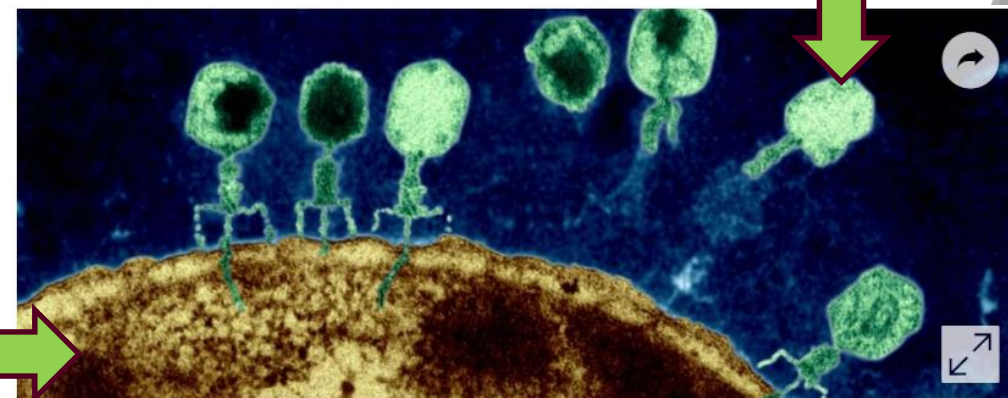
***Streptocoques* : mammites, dermites, etc.**

***Staphylocoques* : idem**



Un virus entier

Une partie d'une bactérie



Ces bactériophages (en vert) s'en prennent à la bactérie *Escherichia coli* (en jaune) en injectant leur génome dans leur proie. À l'avenir, ils pourraient contribuer à des traitements contre les infections. © Carol Potear, NIH

EX DE PARASITES

Helminthes

- > Cestodes : Tænia...
- > Trématodes : Grande Douve...
- > Nématodes : Ascaris, strongles...

Protozoaires

Ex : giardiose, cryptosporidiose, coccidiose, toxoplasmose...



MÉTHANISATION COLLECTIVE :

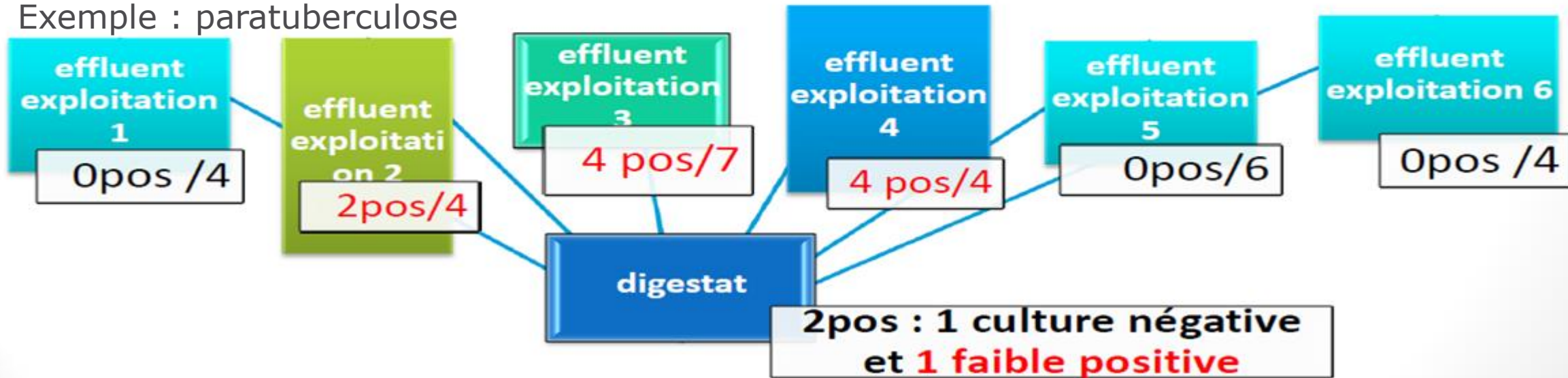
→ « JOUER COLLECTIF »

Certains éleveurs parfois préfèrent éviter, ou oublient (routine) de parler des maladies présentes sur leur exploitation.

Dans un projet collectif il vaut mieux mettre cartes sur table pour savoir ce qu'on pourrait retrouver dans les digestats.

1^{ère} Sécurité : Communiquer.




Exemple : paratuberculose



Fréquence de détection dans les déjections et effluents d'animaux d'élevage (expertise MAFOR, 2014)

MAFOR : matières fertilisantes d'origine résiduaire

Fréquences de détection minimales et maximales (%)

Micro-organisme				
bactéries	<i>Salmonella</i>	1,6 – 89	0-56	3-100
	<i>Listeria monocytogenes</i>	18-27		26,5
	<i>Campylobacter jejuni</i>	12 -85	81-97	20,6
	<i>E. coli</i> O157 : H7 ou VTEC	0-9	22-78	0-2
parasites	<i>Cryptosporidium</i>	3-100	14-63	
	<i>Giardia</i>	7-84	93-100	
virus	Virus de l'hépatite E	3-71		

Forte variabilité des prévalences

Des agents pathogènes sont naturellement présents dans les effluents d'élevage de tous les jours,

Ici on compte le % d'échantillons positifs dans différentes études.



Seenovia
Naturellement proche de l'Agriculteur

...c'est vrai
dans tous les
pays où ces
recherches
ont été faites.

Et on peut
imaginer que
ce n'est pas
nouveau...

Ici on compte
les quantités
retrouvées.

Concentrations en pathogènes dans les effluents d'élevage en Angleterre.

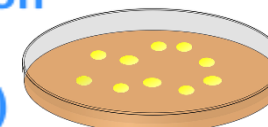
D'après Hutchison *et al.* (2004). Etude réalisée sur 1516 échantillons

Type de lisier/ fumier		Concentration (UFC/g) *					
		Bovins		Porcs		Volailles	
		Moyenne ^a	Max	Moyenne	Max	Moyenne	Max
<i>Salmonella</i>	Frais	2,1 10 ³	5,8 10 ⁵	600	7,8 10 ⁴	220	2,2 10 ⁴
	Stocké	2,5 10 ³	7,2 10 ⁶	610	2 10 ³	4 10 ³	8 10 ³
<i>E. coli</i> entéropathogène	Frais	1,2 10 ³	2,6 10 ⁸	3,9 10 ³	7,5 10 ⁵		
	Stocké	260	7,5 10 ⁴	1,3 10 ³	1,8 10 ⁴		
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Frais	19	3,5 10 ³	58	3,6 10 ³		
	Stocké	11	480	33	310		
<i>Giardia intestinalis</i>	Frais	10	5 10 ³	68	1,6 10 ⁵		
	Stocké	3	36	12	12		

^a moyenne géométrique

- Variabilité des concentrations
- Présence des pathogènes même après stockage

* (UFC /g = Unité Formant Colonie pour un gramme d'échantillon
= nombre de colonies bactériennes qu'on peut compter
sur une boîte de cultureensemencée avec 1 g d'échantillon)



NOTION DE DMI

DMI = Dose Minimum pour Infecter un animal (ou un humain!)

Ex : DMI *E. coli* = 10^6 à 10^{10} bactéries.

→ Autrement dit, il faut déjà ingérer entre 1 million et 10 milliards de cette souche d'*E.coli* pour risquer d'être malade.

(pour certaines c'est plus pour d'autres c'est moins)

**Nous sommes contaminés tous les jours par des agents pathogènes...
Mais la plupart du temps en nombre insuffisant pour nous rendre malades.
C'est pareil pour les animaux.**

→ l'objectif n'est donc pas toujours :

« *zéro germe* » mais plutôt « suffisamment peu de germes »

X LOG₁₀**← QU'EST CE C'EST QUE CE TRUC?****Seenovia**
Naturellement proche de l'Agriculteur**FAISONS DES MATHS !**

Log = logarithme = fonction mathématique, en base 10 par défaut.

Une réduction de 1 log signifie une réduction de la population par un facteur de 10.

1 Log = division par 10 du nombre de bactéries = 90% de bactéries tuées

2 Log = division par 100 du nombre de bactéries = 99%

3 Log = division par 1000 pour le nombre de bactéries = 99,9%

5 Log = 99,999% (pour faire simple : il y a cinq log, alors on écrit cinq 9...)

Etc.



Réduction de micro-organismes dans les boues de STEP traitées par digestion mésophile (35-38°C)

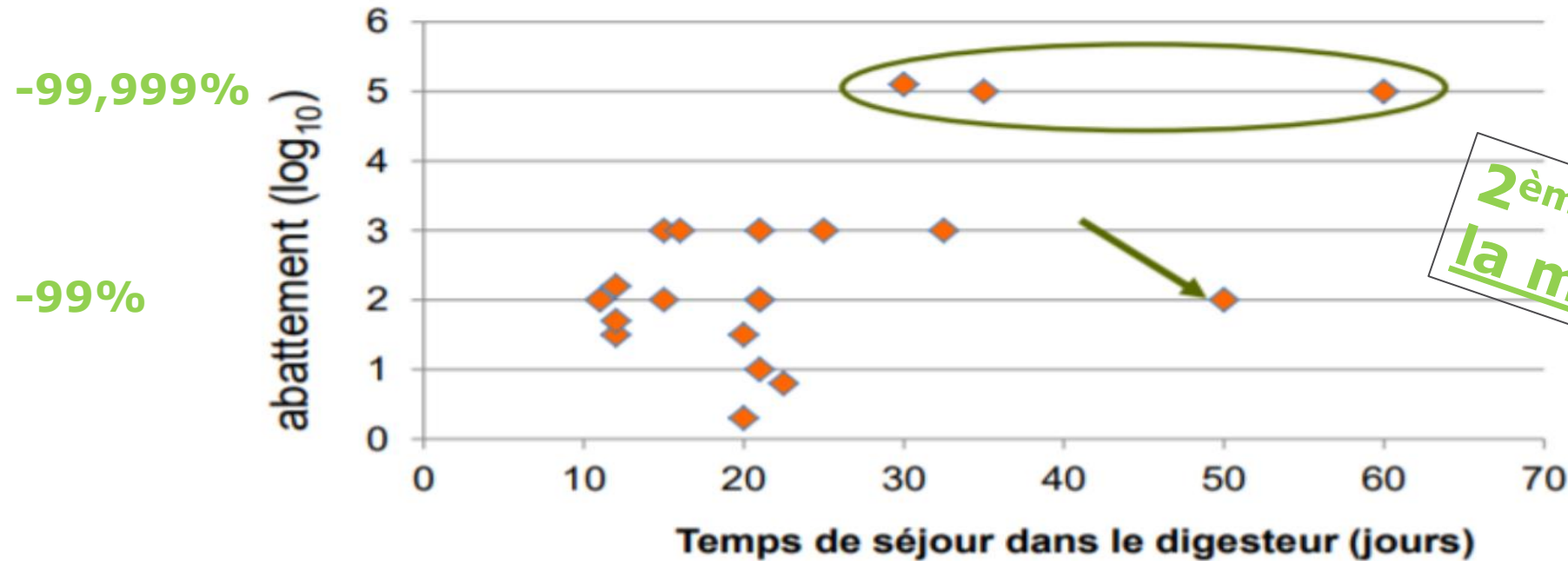
20

Influence du temps de séjour sur la réduction des indicateurs de traitement

- Coliformes totaux
- Coliformes fécaux
- *E. coli*



Un facteur clef : le TEMPS de séjour



2ème SECURITE :
la méthanisation

➤ Sur la gamme étudiée de 12 à 60 jours:

Pas d'effet significatif

➤ Mais les réductions les plus fortes sont observées pour les temps de séjour les plus élevés

MÉSOPHILE/THERMOPHILE

Thermophile > Mésophile en terme de vitesse de réduction de la quantité des agents pathogènes.

Mais par exemple : un temps de rétention hydraulique de 15 jours à 35°C peut déjà permettre une réduction de plus de 98% des E.coli...



Définition : T90 = temps nécessaire pour obtenir une réduction de 90%,
→ soit combien de log?

→ 1Log₁₀

INACTIVATIONS DE VIRUS À 35°C

Une majorité de résultats favorables :

BVD : 3h

IBR : 24h

Entérovirus bovins (Rotavirus, Coronavirus) : 8 j



Mais quelques uns moins bons :

Ex Parvovirus porcin : 21 Semaines

Eventuellement à confirmer par d'autres études...

BACTÉRIES T90 À 35°C (ET +)

Les Salmonelles :

2,1 à 2,4 jours

Les Escherichia coli :

1,8 jours

Clostridium botulinum et perfringens :

peu ou pas

Bacillus anthracis :

?

...

Streptocoques fécaux :

2 jours

Staphylocoque doré :

0,9 jour

Mycobacterium paratuberculosis :

6 jours

(Brucellose : 100% en

1 jour entre 53 et 57°C)



ETUDE METHANISATION ET PARATUBERCULOSE (MAP)

3^{ème} Sécurité :
Les analyses



GDS
Vosges



*Etude réalisée par Carine
HAAS*

GDS 88

*entre octobre 2014 et
septembre 2015*

3 méthanisations mésophiles / 12 exploitations concernées – statuts inconnus en paratuberculose, sauf 1 en plan paratuberculose

1^{ère} méthanisation collective mésophile :

- 4 exploitations : effluent et matières premières
- Séparateur de phase :
 - Digestat liquide
 - Digestat solide

2^{ème} méthanisation collective mésophile :

- 2 exploitations : effluent et matières premières
- ■ Traitement thermique / 65°C entre 2 Digesteurs
- Séparateur de phase :
 - Digestat liquide
 - Digestat solide

3^{ème} méthanisation collective mésophile :

- 6 exploitations : effluent et matières premières
- ■ Absence de séparateur de phase



**Condition d'accord
des éleveurs :**

**ANONYMER les
résultats !**

Protocole de prélèvements

paratuberculose

➤ 3 Élevages laitiers

- Prélèvement de lait de tank
- Prélèvements de bouses dans l'environnement des adultes (minimum 4)
- + fumiers ou lisiers si accessible

➤ 2 Élevages allaitants

- Prélèvements de bouses dans l'environnement des adultes

➤ 7 Mixtes

- Prélèvements dans les deux troupeaux

➤ 3 Méthanisations / digestat

- Phase liquide : 1 prélèvement (brassé et homogène)
- Phase solide : 2 prélèvements
- Sans séparateur de phase : 2 prélèvements

Résultats */paratuberculose*

10 prélèvements de lait de tank ont été analysés en **sérologie** paratuberculose :
1 positif sur 10 exploitations produisant du lait / suivant le seuil conseillé par le fournisseur du kit.

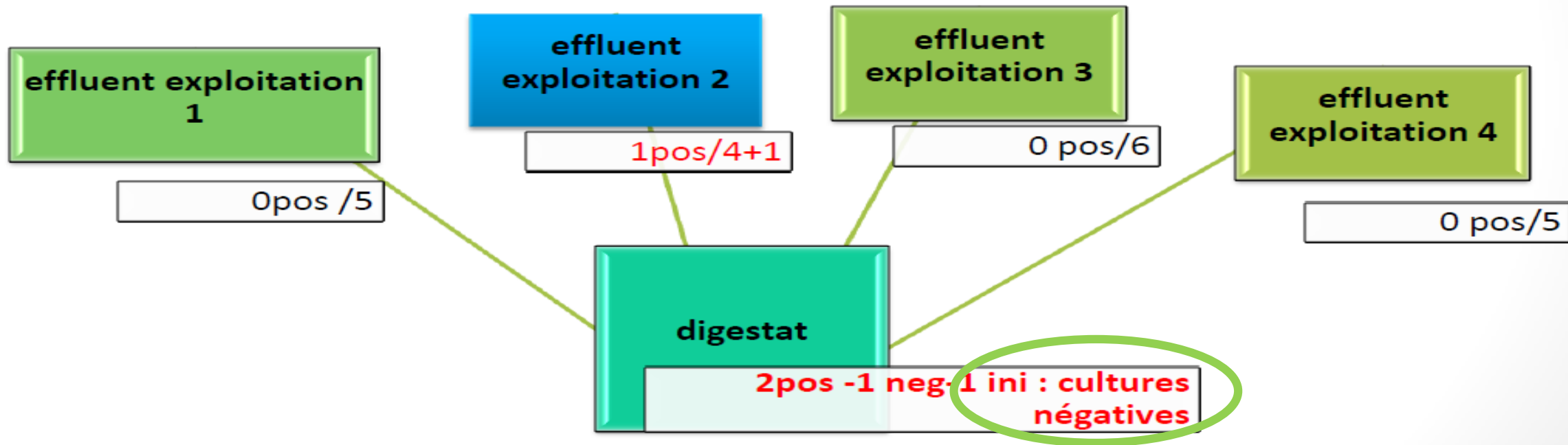
73 prélèvements d'environnement (dans les 12 exploitations) ont été analysés au LVD en **PCR paratuberculose / matières fécales**

- 47 PCR négatives
- 1 ininterprétable
- **25 PCR positives**

Parmi les **9 digestats analysés**, **7 positifs** ont été envoyés au LABOCEA à Quimper pour une **mise en culture liquide** pendant 42 jours **et confirmés par 2 PCR** différentes. Ce procédé a été établi pour voir si la mycobactérie détectée était toujours vivante après passage dans un méthaniseur mésophile (25-45°C). Seule la bactérie vivante pourrait être infectieuse.

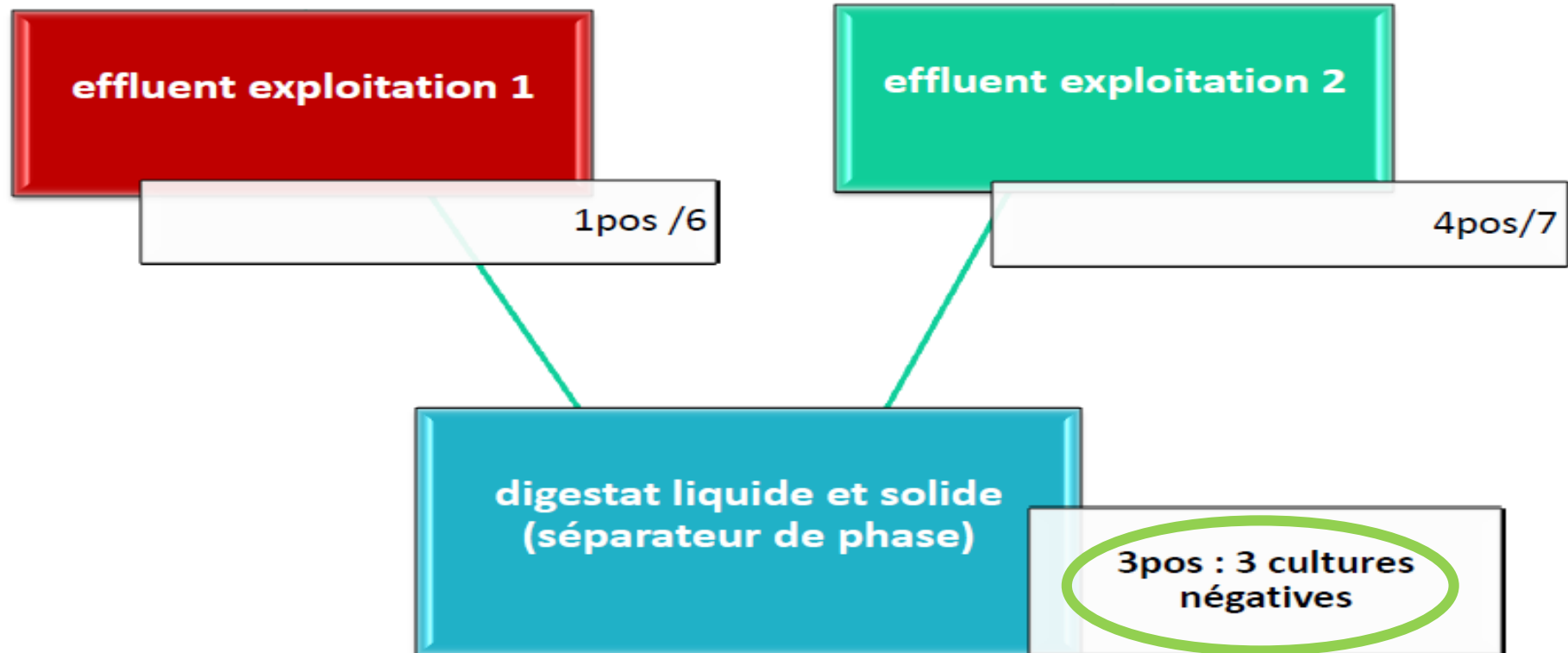
Méthanisation 1 paratuberculose

paratuberculose

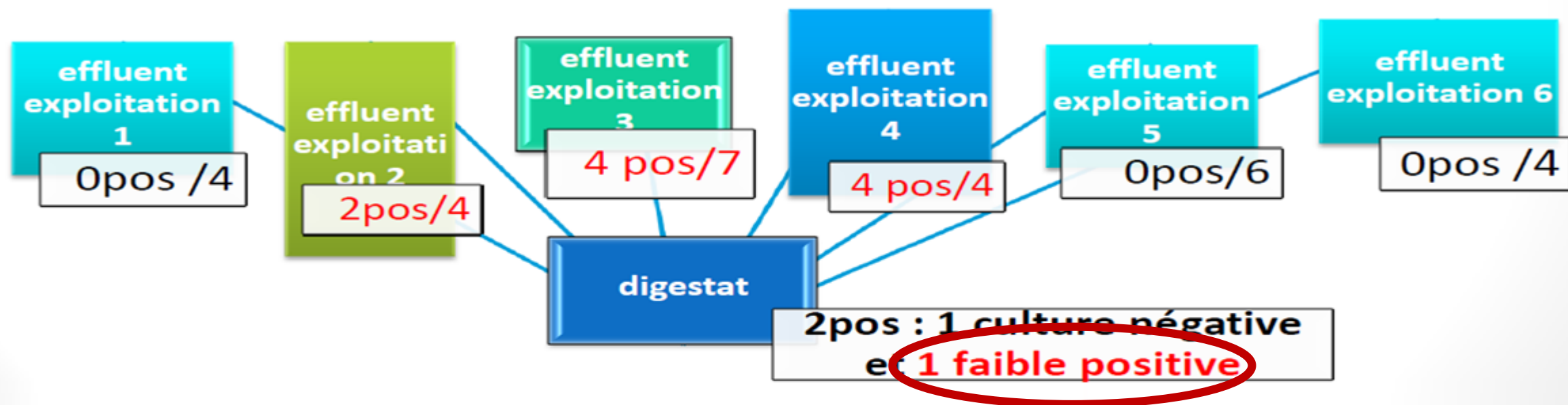


Méthanisation 2

paratuberculose



Méthanisation 3 *paratuberculose*



Donc 12 élevages au départ dont 1 seul se déclarait positif.

...

Et finalement 5 autres étaient porteurs.

→ l'intérêt des analyses.

Conclusion de cette étude

- *Présence de la mycobactérie paratuberculosis avérée dans beaucoup d'élevages*
- *Présence de l'ADN de la bactérie dans les digestats*

Mais ...

- *Est-ce que cette bactérie présente, peut présenter un risque de contamination pour les élevages supposés sains ?*
- *Bactéries mises en culture : résultat négatif ou très faiblement détectable*



Études restant à faire

INACTIVATION DE PARASITES

35°C

Taenia :	20 jours
grande douve :	?
Ascaris :	35 jours
Strongles digestifs :	2 jours
Strongles respiratoire :	7 jours
Cryptosporidiose :	83% en 3 jours / 85 à 100% en 18 jours
giardiose, coccidiose :	?



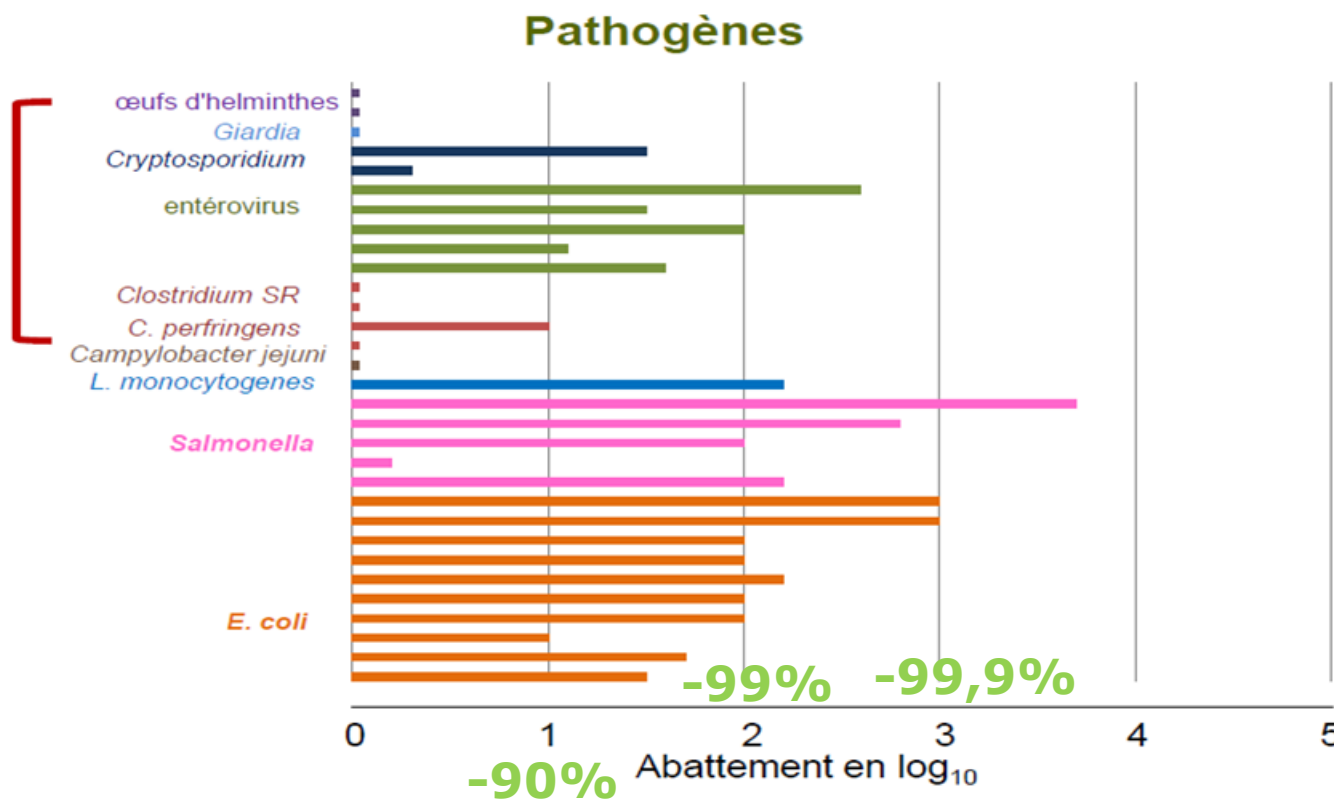
GLOBALEMENT, LA MÉTHANISATION RÉDUIT NETTEMENT LES CONCENTRATIONS EN GERMES PATHOGÈNE



Seenovia
 Naturellement proche de l'Agriculteur

Réduction de micro-organismes dans les boues de STEP
 traitées par **digestion mésophile (35-38°C)**

➔ NB : Temps de séjours courts
 (majoritairement < 30j)



Remarque d'éleveurs :
 « Quand on épand du fumier ou du lisier avec du matériel en commun non nettoyé, ou les uns chez les autres, il n'y a pas de réduction... »

- parasites, virus bactéries sporulées : plus résistantes
- Abattement de *L. monocytogenes* et *Salmonella* comparable à ceux de *E. coli*

PRINCIPALES VOIES D'EXPOSITIONS DES ANIMAUX



4^{ème} Sécurité :
Le temps + la terre, le soleil, la pluie, le vent...

Directe :

- > Manger/boire sur le lieu d'épandage.
- > Respirer (séjourner) sur le lieu d'épandage.

Indirecte :

+ nettoyer les véhicules...

- > Boire de l'eau qui a ruisselé sur le lieu d'épandage.
- > Manger de la nourriture qui vient de pousser sur le lieu d'épandage.

➔ **SECURITE : 3 à 6 semaines minimum** entre épandage et pâturage ou récolte des fourrages (plus il fait sec et chaud mieux c'est).

Tableau 9 : Délai de survie de différents germes pathogènes et indicateurs de contamination sur et dans les sols agricoles (selon la synthèse bibliographique de Guan et Holley, 2003)

DES ÉTUDES
SCIENTIFIQUES
...

...MAIS
ÉCHELONNÉES
SUR DES
DIZAINES
D'ANNÉES, ET
RÉALISÉES DANS
DES
CONDITIONS
TROP
DIFFÉRENTS
POUR ÊTRE
COMPARABLES.

NÉANMOINS, ON
OBSERVE QUE
GLOBALEMENT
LES GERMES NE
SURVIVENT QUE
QUELQUES
SEMAINES EN
MOYENNE.

Germes	Délai de survie	Température	Observations	Sources
Salmonelles	14 jours	Au printemps	En condition naturelle	Baloda et al, 2001
	42 jours	22°C	Souche <i>enterica</i> typhimurium	Zibilske etWeaver, 1978
	56 jours	Entre 0 et 10°C	Temps max. pour abattement total	Hutchison et al., 2005
	63 jours	5°C	Souche <i>enterica</i> typhimurium	Zibilske et Weaver, 1978
	299 jours	-	Souche <i>enterica</i> typhimurium DT 104 et DT12	Baloda et al, non publié
E. coli	16 jours	Entre 0 et 10°C	Temps max. pour abattement total	Hutchison et al., 2005
	Au moins 8 semaines	25°C	Souche O157 :H7, en laboratoire	Mubiru et al., 2000
Y. enterolitica	7 jours	30°C	En laboratoire	Chao et al., 1988
Campylobacter	10 jours	20-37°C	Souche <i>intestinalis</i>	Lindenstruth et al., 1949
	20 jours	6°C		
	36 jours	Entre 0 et 10°C	Temps max. pour abattement total	Hutchison et al., 2005
Listeria sp.	120 jours	Entre 0 et 10°C	Temps max. pour abattement total	Hutchison et al., 2005
Giardia	7 jours	- 4°C	Sous forme de kystes Perte de virulence	Olson et al., 1999
Cryptosporidium	> 12 semaines	- 4°C		
	4 semaines	25°C	Perte de virulence	

LES RECHERCHES NE SONT PAS FINIES...

Encore beaucoup de choses à apprendre sur les temps d'inactivation des différents pathogènes, en fonction des différents systèmes utilisés et des différents mélanges de produits à méthaniser.

Sans compter les différents protocoles d'études et les différentes analyses utilisées comme références, etc.



<https://fr.depositphotos.com/190446508/stock-illustration-caucasian-laboratory-assistant-with-a.html>

Principaux paramètres influençant la survie des pathogènes au cours de la digestion anaérobie

(Chen *et al.*, 2012 ; Gao *et al.*, 2013 ; Kunte *et al.*, 2000 ; O'Reilly *et al.*, 2009 ; Salsali *et al.*, 2006 ; Smith *et al.*, 2005 ; White *et al.*, 2000 ; White et Stuckey, 2000, Xu *et al.*, 2016)

- température
- temps passé dans le réacteur (temps de séjour hydraulique et temps de séjour de la biomasse)

- composition de l'effluent d'entrée

- pH
- Acides GRAs volatiles (AGV)

Et des questions notamment sur l'influence :

- Quel est l'impact des pré-traitements (ex : 70°C, 1 heure) sur les formes de résistance (virus, spores , kystes) ?

- interactions microbiennes
compétition
antagonismes bactériens



MA CONCLUSION

Ce qu'on sait indique que le risque, s'il n'est pas nul, reste faible tant que les normes de sécurité sont respectées :

- 1. Communication : pas de matière à risque important à l'entrée.**
- 2. Respect de l'hygiène, des températures et des durées.**
- 3. Analyses régulières à la sortie.**
- 4. Respect des règles d'épandage/pâturage.
(et nettoyer les véhicules)**



<https://fr.dreamstime.com/image-stock-garde-de-s%C3%A9curit%C3%A9-de-dessin-anim%C3%A9-image20227171>

MERCI.

Principaux documents utilisés :

- *Méthanisation des effluents et déchets organiques : état des connaissances sur le devenir pathogène*, Laurent, Emmanuel MARACHE, 2001, ENVT
- Hygiénisation des effluents d'élevage porcin, Techni porc Vol. 30, NO2 – 2007, Pascal LEVASSEUR, Stéphane DUTRÉMÉ
- *QUALITÉ AGRONOMIQUE ET SANITAIRE DES DIGESTATS*, Etude réalisée pour le compte de l'ADEME et le Ministère de l'Agriculture par RITTMO Agroenvironnement, Uteam, FIBL, INERIS, LDAR 2011
- Impact de la digestion anaérobie sur les bactéries indicatrices de traitement et les micro-organismes pathogènes : **revue bibliographique, Anne-Marie Pourcher, Céline Druilhe, 2015, IRSETA**
- http://www.energivie.info/sites/default/files/documents/methanisation_alsace_2016.pdf
- ICP 2016_Carine Haas_Methanisation et hygiénisation PTB (paratuberculose)
- Arrêté du 13 juin 2017 approuvant un cahier des charges pour la mise sur le marché et l'utilisation de digestats de méthanisation agricoles en tant que matières fertilisantes
- Etc.