



Maisons-Alfort, le 19 mai 2010

## AVIS\*

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques sur les effluents issus des établissements de transformation de sous-produits animaux de catégories 1, 2 ou 3 à des fins de réutilisation pour l'irrigation des cultures destinées à la consommation humaine ou animale

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

#### RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie d'une demande d'avis relatif à l'évaluation des risques sur les effluents issus des établissements de transformation de sous-produits de catégories 1, 2 ou 3 à des fins de réutilisation pour l'irrigation des cultures destinées à la consommation humaine ou animale.

#### CONTEXTE

L'Afssa a été saisie le 18 novembre 2009 par la Direction générale de l'alimentation (DGAI) d'une demande d'«évaluation des risques assortie de recommandations de gestion en matière d'utilisation d'effluents liquides des établissements de collecte, de stockage, de manipulation ou de traitement des sous-produits d'origine animale des catégories C1, C2 ou C3 au sens du règlement (CE) n°1774/2002, ainsi que des abattoirs ».  
En accord avec la DGAI, l'Afssa a restreint le champ de l'expertise à la réutilisation des effluents liquides pour l'irrigation des cultures destinées à l'alimentation humaine et à l'alimentation animale (les espaces verts étant du domaine de compétence de l'Afsset).

Pour mémoire, un projet d'arrêté interministériel en date de mars 2001 « fixant du point de vue sanitaire les prescriptions techniques, les modalités de mise en œuvre et de surveillance applicables à l'utilisation des eaux issues du traitement d'épuration des eaux résiduaires des collectivités territoriales pour l'arrosage ou l'irrigation de cultures ou d'espaces verts » élaboré par les ministères en charge de la santé, de l'environnement et de l'agriculture a été soumis par la DGS à l'avis de l'Afssa. L'Afssa a rendu un rapport « réutilisation des eaux usées traitées pour l'arrosage ou l'irrigation » en novembre 2008. L'Afsset, saisie sur une version ultérieure de l'arrêté, a émis un avis le 8 octobre 2009<sup>1</sup>.

#### METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par des experts des CES « Eaux », « ESST », « Santé animale » et « Microbiologie ». L'avis a été présenté et les conclusions validées lors des CES « ESST » du 16 avril, « Santé animale » du 7 avril, « Microbiologie » du 14 avril et CES « Eaux » du 4 mai 2010.

27-31, avenue  
du Général Leclerc  
94701

Maisons-Alfort cedex  
Tel 01 49 77 13 50  
Fax 01 49 77 26 13  
www.afssa.fr

REPUBLIQUE  
FRANÇAISE

\*Cet avis prend en compte l'erratum du 22 Mars 2011 modifiant la page 15 de l'avis sur la citation des travaux de Brown et Gajdusek, 1991.

<sup>1</sup> Avis de l'Afsset du 8 octobre 2009 relatif au projet d'arrêté interministériel relatif à l'utilisation d'eaux issues du traitement d'épuration des eaux résiduaires urbaines pour l'irrigation de cultures ou d'espaces verts.

Pour estimer le risque au regard de la valorisation possible des effluents pour l'irrigation des cultures alimentaires (pour l'Homme ou l'animal), les experts ont dressé un état des lieux des différentes réglementations concernées ainsi que des pratiques de terrain. L'expertise s'est ensuite intéressée à l'identification (et à la caractérisation) des dangers dans les effluents bruts issus des différents établissements ainsi qu'à l'efficacité des différents traitements utilisés dans les procédés industriels vis-à-vis de ces dangers.

L'expertise a été centrée sur les risques biologiques en examinant les dangers liés aux agents transmissibles non conventionnels (pathogènes responsables des maladies à prion) et aux agents transmissibles conventionnels (bactéries, virus, parasites...).

Par ailleurs, une journée d'échanges avec les filières professionnelles et les services ministériels concernés a été organisée, en amont de l'évaluation, ainsi que la visite d'un site de transformation de sous-produits animaux de catégories 1 et 2.

## GLOSSAIRE

### **Etablissements traitant des sous-produits animaux (SPA)**

#### **Abattoirs :**

Etablissement utilisé pour l'abattage et l'habillage des animaux dont la viande est destinée à la consommation humaine. En 2010, on dénombrait 285 abattoirs d'ongulés domestiques en France, dont 215 abattoirs multi-espèces et 70 abattoirs spécialisés (dont 40 de petits ruminants) (source : DGAI). Dans les abattoirs mixtes, les chaînes peuvent être dédiées en fonction de l'espèce (configuration ergonomique) ;

#### **Etablissements de transformation de sous-produits animaux :**

Etablissement assurant le traitement de matières de catégorie 1 avant élimination finale (établissement de transformation de catégorie 1 ou selon l'ancienne appellation « équarrissages »), avant leur élimination finale ou une nouvelle transformation ou utilisation (établissement de transformation de catégorie 2), ou assurant la transformation de matières de catégorie 3 en protéines animales transformées et autres produits transformés ;

#### **Etablissements intermédiaires :**

Etablissement assurant la manipulation ou l'entreposage temporaire de matières non transformées des catégories 1, 2 ou 3 en vue de leur transport vers une destination finale. Suivant la catégorie de sous-produits, on distingue les établissements intermédiaires de catégorie 1 ou 2 et les établissements intermédiaires de catégorie 3. Certaines activités peuvent avoir lieu comme le prélèvement de peau ou la réalisation d'inspection *post mortem* (catégorie 1 et 2), le tri et/ou la découpe et/ou la réfrigération ou la congélation sous forme de blocs et/ou l'entreposage temporaire (catégorie 3) ;

#### **Etablissement d'entreposage :**

Etablissement autre que les établissements intermédiaires assurant l'entreposage temporaire de produits transformés en vue d'une utilisation ou d'une élimination finale ;

### **Tri des matières et pré traitements des eaux résiduaires**

#### **Déchets ou refus de dégrillage :**

Il s'agit des matières visibles et solides retenues par le dégrilleur (filtre installé au niveau des systèmes de collecte des eaux résiduaires des abattoirs ou des établissements traitant de sous-produits animaux lorsqu'un prétraitement est requis). La taille de la maille des dégrilleurs est fixée par la réglementation à 6 mm. Par conséquent, le dégrilleur sépare les sous-produits solides (catégories 1 ou 2 en fonction de l'espèce) des effluents. Les matières solides issues des ruminants (bovins et petits ruminants) sont classées en catégorie 1 ;

**Déchets de dessablage :**

Matières animales ou sédiments visibles et solides retenus par les systèmes de dessablage constituant un prétraitement ;

**Traitements et utilisations des effluents**

**Station d'épuration des eaux usées - STEP:**

Système destiné à la purification des eaux usées (effluents) comprenant des ouvrages et des équipements techniques. On parle de « STEP urbaines » pour les stations d'épuration sous maîtrise d'ouvrage communale ou intercommunale, et de « STEP privées » pour les autres.

**Boues solides (arrêté du 8 janvier 1998<sup>2</sup>) :**

Boues primaires ou secondaires déshydratées qui, entreposées sur une hauteur de 1 mètre, forment une pente au moins égale à 30°;

**Boues stabilisées (arrêté du 8 janvier 1998) :**

Boues primaires ou secondaires qui ont subi un traitement de stabilisation consistant à bloquer ou achever la fermentation (ajout de chaux vive par exemple) ;

**Boues hygiénisées (arrêté du 8 janvier 1998) :**

Boues qui ont subi un traitement qui réduit à un niveau non détectable les agents pathogènes présents dans les boues.

**Clarification :**

Etape de séparation de l'eau traitée et des boues biologiques

**Lagunage naturel :**

Procédé d'un traitement biologique constitué d'une série de lagunes à eaux usées sans aération artificielle

**Ultrafiltration :**

Opération de filtration membranaire alimentée sous pression, constituée de membranes possédant une taille moyenne de pores comprise entre 2 et 100 nanomètres (nm). Les seuils de coupure correspondants varient entre 2000 et 500 000 Da. Le point de coupure est le diamètre de particules retenues avec un abattement de 1 log.

**Stérilisation/ traitements thermiques :**

Au sens du présent rapport, on entend stérilisation des effluents, l'application d'un traitement thermique à 133°C sous 3 bars pendant 20 minutes tel que prévu par le règlement (CE) 1774/2002.

**Aspersion :**

Apport d'eau par le dessus du végétal, l'eau retombe en une pluie artificielle sur les plantes.

**Irrigation :**

Apport d'eau afin de compenser un déficit en eau du sol face aux besoins des végétaux<sup>3</sup>.

---

<sup>2</sup> Arrêté du 8 janvier 1998 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles.

<sup>3</sup> D'après le projet d'arrêté tel que transmis sur la réutilisation des eaux usées traitées, plusieurs modalités d'irrigation existent :

1. irrigation gravitaire : l'eau est fournie aux plantes par remplissage de petits bassins, par planches ou par calans, par des rigoles, canaux ou raies d'irrigation ;
2. irrigation localisée :
  - a. souterraine : l'eau est fournie par l'intermédiaire de tuyaux perforés, de goutteurs de micro-irrigation ou de drains enterrés ;
  - b. de surface : l'eau est distribuée au moyen de goutteurs ou de rampes perforées au voisinage de la plante ;
3. irrigation par aspersion : l'eau est fournie aux plantes sous forme de pluie artificielle grâce à l'utilisation d'organes d'arrosage ou d'aspenseurs alimentés en eau sous pression.

**Infiltration :**

Transfert de l'eau au travers de la zone non saturée du sol vers la nappe ou lame d'eau qui s'infiltré.

**Epandage :**

Apport d'un mélange d'eau et de matières solides à des cultures à des fins d'amendement. La dose d'épandage est définie en fonction de la valeur agronomique de ce qui est épandu.

**Dangers :**

**Agents transmissibles non conventionnels (ATNC) :**

Les ATNC ou prions sont des agents infectieux non conventionnels car d'origine essentiellement protéique. Ils sont en effet formés d'agrégats riches en protéine prion PrP sous une forme mal repliée. Ils sont responsables des encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST).

**Agents transmissibles conventionnels (ATC) :**

Agents pathogènes viraux, procaryotes (bactéries) ou eucaryotes (parasites)

**Autres termes utilisés :**

**Pâturages :**

Terres couvertes d'herbe ou d'autres plantes fourragères sur lesquelles paissent des animaux d'élevage ou qui sont utilisées pour l'alimentation des animaux d'élevage.

**Matériel à risque spécifié (MRS) :**

Tissus ou organes susceptibles de contenir de l'infectiosité au regard des EST et listés dans le règlement CE n°999/2001 et l'arrêté du 17 mars 1992<sup>4</sup>. Ils sont systématiquement retirés de la chaîne alimentaire (humaine et animale) et détruits.

## ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Afssa est fondé sur l'expertise des CES « EAUX », « ESST », « Santé animale » et « Microbiologie », et comprend trois parties relatives à l'état des lieux réglementaires, l'état des lieux des pratiques de terrain et l'identification et la caractérisation des dangers biologiques.

---

<sup>4</sup> Arrêté relatif aux conditions auxquelles doivent satisfaire les abattoirs d'animaux de boucherie pour la production et la mise sur le marché de viandes fraîches et déterminant les conditions de l'inspection sanitaire de ces établissements.

## I. Etat des lieux réglementaire

---

### 1. Réglementation communautaire pour les sous-produits animaux (CE 1774/2002)<sup>5</sup>

Le règlement (CE) N° 1774/2002 établit des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux (SPA) de catégories 1, 2 et 3 (C1, C2, C3) non destinés à la consommation humaine (et issus des établissements de collecte, entreposage, manipulation et transformation).

Ce règlement prévoit des exigences concernant :

- les équipements adéquats pour nettoyer et désinfecter les récipients recevant les sous-produits animaux ainsi que les véhicules (notamment les roues) ;
- le nettoyage des conteneurs, récipients et véhicules utilisés pour le transport des matières non traitées dans les usines d'incinération ;
- le dispositif d'évacuation des eaux résiduaires ;
- le traitement des eaux résiduaires en contact avec les SPA de catégories C1, C2, C3 :
  - des établissements de transformation et intermédiaires des catégories C1 et C2,
  - des établissements d'incinération et de co-incinération provenant du secteur de nettoyage des conteneurs utilisés pour le transport des matières non traitées,

de manière à s'assurer qu'aucun agent pathogène ne subsiste.

Le règlement prévoit également une étape de prétraitement (dit de dégrillage) qui comporte des cribles retenant les particules solides des eaux résiduaires dont la taille des ouvertures ne dépasse pas 6 mm.

Cette étape de prétraitement des eaux résiduaires est prévue :

- pour les usines de transformation des matières de catégorie 1,
- pour les locaux où sont enlevés les matériels à risque spécifié (MRS),
- pour les abattoirs et les établissements de transformation des matières de catégorie 2.

A noter que le périmètre d'application du règlement concerne uniquement le devenir des matières retenues par le filtre de 6 mm.

Après le prétraitement, les eaux résiduaires des établissements traitant des matières de catégories 1 ou 2 sont traitées au même titre que les eaux résiduaires des établissements recevant uniquement des matières de catégorie 3 selon la législation nationale ou communautaire pertinente. Les dispositions sont détaillées ci-après.

Sont définis comme sous-produit de catégorie 1 (cf. détail en annexe 1) :

- Les cadavres (ou parties de cadavres) d'animaux atteints ou suspectés d'être infectés par une encéphalopathie spongiforme transmissible (EST) ou abattus dans le cadre de mesures d'éradication ;
- Le corps des animaux sauvages suspectés d'être infectés par une maladie transmissible ;
- Les MRS et cadavres des animaux morts contenant des MRS (ruminants) ;

---

<sup>5</sup> 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, abrogé par le RÈGLEMENT (CE) N° 1069/2009 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 21 octobre 2009, applicable à partir du 4 mars 2011.

- Les matières contenant des substances interdites ou réglementées, ou des contaminants de l'environnement ;
- Les matières d'origine animale recueillies lors du traitement des eaux résiduaires des usines de transformation de C1 et d'autres locaux où sont enlevés les MRS, déchets de dégrillage, de dessablage, mélanges de graisses et d'huiles, les boues les matières provenant des égouts de ces installations sauf si elles ne contiennent aucun MRS ;
- Le corps des animaux familiers, de zoo ou de cirque ;
- Le corps des animaux d'expérience ;
- Les déchets de cuisine ou de table provenant de moyens de transport internationaux ;
- Les mélanges de matières dès lors qu'ils contiennent des sous-produits de catégorie 1 tel que défini ci-dessous.

Les sous-produits C1 sont :

- soit directement incinérés dans une usine agréée ;
- soit traités dans une usine de transformation agréée, en appliquant un traitement thermique (méthodes formalisées de 1 à 4). Le produit obtenu est ensuite incinéré ou co-incinéré ou fait l'objet dans certains cas d'un enfouissement).

Les méthodes de transformation des matières de catégorie 1 sont définies par le règlement en fonction de la taille, tel que présenté dans le tableau 1 :

**Tableau 1 : Définition des méthodes de transformation des matières de catégorie 1**

Méthode	Taille	Traitement
1	50 mm max	133°C/ 20 min/ 3 bars
2	150 mm max	T°C > 100°C / 125 min ; T°C > 110°C /120 min et T°C > 120°C /50 min
3	30 mm max	T°C >100°C /95 min ; T°C > 110°C /55 min et T°C > 120°C /13 min
4	30 mm max présence de graisses ajoutées	T°C >100°C/16 min ; T°C >110°C /13 min ; T°C >120°C /8 min et T°C >130°C /3 min

A noter que pour les protéines animales transformées, seule la méthode 1 est inactivante au regard du risque EST (avec un abattement de 2 à 7 log selon la souche considérée (Giles K *et al.*, 2008 ; Taylor, 2000). Cependant, elles peuvent être traitées indifféremment par l'une des méthodes 1 à 4 puisqu'elles sont incinérées par la suite. Dans ce cas, un marquage permanent (au glutaraldéhyde par exemple) des protéines est obligatoire.

Sont considérés comme sous-produit C 2 (cf. détail en annexe 1) :

- Les lisiers et matières stercoraires ;
- Les matières issues des eaux résiduaires d'abattoirs et usines de transformation de catégorie 2 ;
- Les matières contenant des résidus de médicaments vétérinaires ;

- Les produits importés ne satisfaisant pas aux exigences sanitaires ;
- Les cadavres d'animaux autres que ceux de catégorie 1 ;
- Les mélanges de sous-produits de catégories 2 et 3.

**En fonction de leur nature, les matières de catégorie 2 peuvent :**

- Soit être traitées comme des matières de catégorie 1 et donc être incinérées ;
- Soit pour les lisiers, matières stercoraires, lait et colostrum, être acheminées vers une usine, de production de biogaz ou de compostage agréées, épandues ou transformées en compost ou biogaz ;
- Soit après transformation dans une usine de transformation de catégorie 2, être incinérées ou co-incinérées, enfouies, transformées en compost, biogaz, amendements organiques ou acheminées vers une unité oléochimique.

**Sont considérés comme sous-produit de catégorie 3 (cf. détail en annexe 1) :**

- Les coproduits d'abattage provenant d'animaux propres à la consommation humaine mais non utilisés pour des raisons économiques ;
- Les saisies partielles mais exemptes de maladie transmissible ;
- Les sous-produits issus de la production agroalimentaire ;
- Les anciennes denrées alimentaires ;
- Le sang, la peau, les phanères, non récupérés à l'abattoir ;
- Les déchets de cuisine.

**Les sous-produits de catégorie 3 sont :**

- Soit traités comme des matières de catégorie 1 et donc être incinérées ;
- Soit transformés dans des établissements de transformation de catégorie 3, les usines de produits techniques, les usines de production d'aliments pour animaux familiers, les usines de production de biogaz ou de compostage.

## **2. Réutilisation des effluents**

Peu de textes réglementaires français visent explicitement la réutilisation des effluents traités des stations d'épuration. C'est pourquoi, il est apparu pertinent aux experts d'étudier aussi la réglementation relative à l'épandage des boues, pratique dont les impacts sur la santé humaine ou animale se rapprochent de ceux de la réutilisation des effluents traités. Les paragraphes suivants détaillent ainsi à la fois la réglementation applicable à la réutilisation des effluents traités et celle applicable à l'épandage de boues, étant entendu que cette dernière ne s'applique pas au sujet traité dans ce rapport

**a. Cadre général**

- **l'arrêté du 22 juin 2007<sup>6</sup>** relatif à la collecte, au transport et au traitement des eaux usées des agglomérations d'assainissement fixe les prescriptions techniques minimales ainsi que leur surveillance, en particulier :
- l'article 6 relatif au raccordement d'effluents non domestiques au réseau de collecte ;
  - l'article 10 relatif au rejet des effluents traités des stations d'épuration (STEP) précise notamment que « dans le cas où le rejet des effluents traités dans les eaux superficielles n'est pas possible, les effluents traités peuvent être soit éliminés par infiltration dans le sol, si le sol est apte à ce mode d'élimination, soit réutilisés pour l'arrosage des espaces verts ou l'irrigation des cultures, conformément aux dispositions définies par arrêté du ministre chargé de la santé et du ministre chargé de l'environnement. » ;
  - les annexes I à IV déterminent les performances minimales des deux catégories de STEP des agglomérations en terme de concentration maximale et/ou de rendement minimal à atteindre pour les paramètres caractérisant la charge de pollution organique ; des prescriptions relatives à l'azote et au phosphore s'appliquent dans les zones sensibles à l'eutrophisation ;
  - l'annexe V donne la liste des substances que les effluents non domestiques ne doivent pas contenir à des concentrations susceptibles de conduire à la production de boues ou des rejets dans le milieu récepteur non conformes sur le plan réglementaire.

A noter qu'aucune prescription relative à la qualité microbiologique des eaux usées ou des eaux usées traitées n'est prévue dans cet arrêté ministériel.

- **L'arrêté du 8 janvier 1998<sup>7</sup>** fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles détaille :
- la conception et la gestion des épandages ;
  - la qualité des boues et les précautions d'usage ;
  - les modalités de surveillance comprenant des analyses des boues portant sur les composés traces métalliques et le sélénium, les composés-traces organiques, les caractérisations de leur valeur agronomique dont les valeurs seuils figurent dans les annexes. Il est prévu de rechercher en sus toute substance ou micro-organisme pouvant être présent en quantité significative dans les boues du fait de la nature des effluents traités. Les sols font également l'objet d'une surveillance.

Dans le cas de certaines dispositions spécifiques d'épandage, les boues hygiénisées produites doivent être conformes à des limites de dénombrement fixées pour *Salmonella spp*, entérovirus, les œufs d'helminthes pathogènes viables, et ce à la mise en service de l'unité de traitement. Les coliformes thermotolérants sont dénombrés tant en phase de caractérisation du process qu'au titre de la surveillance.

Les distances d'isolement minimales et les délais de réalisation des épandages sont déclinés en fonction de la nature des activités à protéger et du type de boues épandues, à savoir :

- pour les herbages ou cultures fourragères :
  - délai de trois semaines avant la remise à l'herbe des animaux ou de la récolte des cultures fourragères pour les boues hygiénisées.
  - délai de six semaines avant la remise à l'herbe des animaux ou de la récolte des cultures fourragères, pour les autres types de boues.
- pour les terrains affectés à des cultures maraîchères et fruitières à l'exception des cultures d'arbres fruitiers : pas d'épandage pendant la période de végétation, quel que soit le type de boues ;

---

<sup>6</sup> Arrêté du 22 juin 2007 relatif à la collecte, au transport et au traitement des eaux usées des agglomérations d'assainissement ainsi qu'à la surveillance de leur fonctionnement et de leur efficacité, et aux dispositifs d'assainissement non collectif recevant une charge brute de pollution organique supérieure à 1,2 kg/j de DBO.

<sup>7</sup> Arrêté du 8 janvier 1998 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles.

- pour les terrains destinés ou affectés à des cultures maraîchères ou fruitières, en contact direct avec les sols, ou susceptibles d'être consommées à l'état cru :
  - dix mois avant la récolte, et pendant la récolte elle-même pour les boues hygiénisées.
  - dix-huit mois avant la récolte, et pendant la récolte elle-même pour les autres types de boues.

**b. Cadre réglementaire spécifique à certaines installations classées pour la protection de l'environnement (établissements traitant des sous-produits animaux de catégories 1, 2 et 3)**

➤ **arrêtés du 12 février 2003** modifiés relatifs :

- aux prescriptions applicables aux installations classées soumises à autorisation sous la rubrique 2730 traitement de sous-produits d'origine animale, y compris débris, issues et cadavres, à l'exclusion des activités visées par d'autres rubriques de la nomenclature, des établissements de diagnostic, de recherche et d'enseignement ;
- aux prescriptions applicables aux installations classées soumises à autorisation sous la rubrique 2731 dépôts de sous-produits d'origine animale, y compris débris, issues et cadavres, à l'exclusion des dépôts de peaux, des établissements de diagnostic, de recherche et d'enseignement.

Ces deux arrêtés régissent le traitement des effluents après la pré-filtration de 6 mm, décrite précédemment, et leur rejet dans le milieu naturel.

Les effluents recueillis sont divisés en 3 catégories :

- les eaux pluviales non souillées ;
- les eaux souillées et les eaux ayant été en contact avec des matières premières ou avec des surfaces souillées par des matières premières ;
- les autres eaux (eaux de lavage, y compris eaux de lavage des gaz, eaux de purge, eaux vannes, etc.).

La destination des effluents et le type de traitement à leur appliquer sont fonction de la catégorie à laquelle l'effluent appartient. Par ailleurs, les points de rejet dans le milieu naturel doivent être en nombre aussi réduit que possible.

Les dispositions relatives au rejet en milieu naturel des effluents (annexe I de ces arrêtés) s'inspirent de l'arrêté du 22 juin 2007. Aucune prescription relative à la qualité microbiologique des eaux usées traitées ne figure dans ces deux arrêtés.

Les dispositions relatives à l'épandage prévu uniquement s'il y a un intérêt pour les sols ou pour la nutrition des cultures (annexe II) sont calquées sur les dispositions de l'arrêté du 8 janvier 1998.

Dans certains cas particuliers (ex. épandage sur des herbage ou cultures fourragères ou terrains destinés ou affectés à des cultures maraîchères ou fruitières, en contact direct avec le sol, ou susceptibles d'être consommés à l'état cru), l'épandage n'est permis qu'« en cas d'absence de risque lié à la présence de pathogènes pour certaines activités ».

Par ailleurs, les arrêtés du 25 avril 2008<sup>8</sup> ont modifié les arrêtés du 12 février 2003 en supprimant l'obligation d'autoclavage à 133 °C, 20 minutes, 3 bars, des effluents prévue dans les articles 36 et 27 (articles traitant des eaux souillées et des eaux ayant été en contact avec les matières premières de catégories 1 ou 2 ou avec les surfaces souillées par des matières premières de catégories 1 ou 2). Il est désormais prévu que les effluents soient épurés de façon à respecter les valeurs limites de rejet (comme les paramètres physico-chimiques) définies à l'annexe I. Les installations doivent par ailleurs être équipées de dispositifs de prétraitement des effluents pour retenir et recueillir les matières d'origine animale. Il s'agit du prétraitement par dégrillage comme décrit dans le règlement (CE) n°1774/2002.

<sup>8</sup> Arrêté du 25 avril 2008 modifiant l'arrêté du 12 février 2003 relatif aux prescriptions applicables aux installations classées soumises à autorisation sous la rubrique 2730 (traitement de sous-produits animaux d'origine animale) et Arrêté du 25 avril 2008 modifiant l'arrêté du 12 février 2003 relatif aux prescriptions applicables aux installations classées soumises à autorisation sous la rubrique 2731 (dépôts de chairs, cadavres, débris ou issues d'origine animale, à l'exclusion des dépôts de peaux).

Selon ce même arrêté, les boues issues du traitement des matières premières de catégories 1 ou 2 (sauf dérogation préfectorale) sont retraitées dans le circuit de traitement des matières de catégorie 1 ou 2 selon l'origine des boues (ou en cas de mélange de catégories, dans le circuit de traitement des matières de catégorie 1). Les boues issues des installations traitant des sous-produits de catégorie 3 peuvent être valorisées.

**c. Cadre réglementaire spécifique aux établissements d'abattage**

➤ **arrêtés du 30 avril 2004** modifiés relatifs :

- aux prescriptions générales applicables aux installations classées pour la protection de l'environnement soumises à autorisation sous la rubrique n°2210 « abattage d'animaux » qui fixe les prescriptions applicables aux abattoirs d'animaux de boucherie, de volailles, de lapins et de gibier d'élevage ;
- aux prescriptions générales applicables aux installations classées pour la protection de l'environnement soumises à déclaration sous la rubrique n°2210 « abattage d'animaux » fixant les prescriptions applicables à des installations classées incluses dans un établissement qui comporte au moins une installation soumise au régime de l'autorisation dès lors que ces installations ne sont pas régies par l'arrêté préfectoral d'autorisation.

Ces deux arrêtés régissent notamment le traitement et rejet des effluents à savoir :

- Les eaux résultant de l'activité (process, lavage) ;
- Les eaux vannes (sanitaires).

Ils prévoient :

- un raccordement à un réseau d'assainissement collectif sous certaines conditions,
- le rejet dans le milieu naturel sous réserve du respect de valeurs limites pouvant nécessiter, outre un dégrillage (maille : 6 mm), un traitement des eaux résiduaires en amont (homogénéité des paramètres et des valeurs seuils par référence aux arrêtés cités ci-dessus). Les points de rejet dans le milieu naturel doivent être en nombre aussi réduit que possible. Le rejet direct ou indirect même après épuration des eaux usées dans une nappe souterraine est interdit.
- que le réseau de collecte doit être de type séparatif<sup>9</sup>.
- que les refus de dégrillage 6 mm (sous-produits) ainsi que les sous-produits de l'abattage non transformés y compris le sang ne peuvent être épandus. Dans le cas des abattoirs de ruminants, ils sont incinérés.
- que sans préjudice des restrictions définies par la réglementation pour des motifs sanitaires, les effluents, à l'exclusion des eaux vannes, qui ont subi le prétraitement défini dans ces arrêtés<sup>10</sup>, peuvent faire l'objet d'un épandage sur ou dans les terres agricoles, dès lors que l'exploitant ne possède pas de station d'épuration. Les prescriptions relatives à l'irrigation des terres agricoles sont moins détaillées.

A noter qu'aucune prescription relative à la qualité microbiologique des eaux usées traitées ne figure dans ces arrêtés ministériels et qu'il n'y a aucune réglementation particulière pour les rejets d'eaux résiduaires quant au risque lié aux agents transmissibles non conventionnels (ATNC).

Il ressort de cette analyse des réglementations communautaires et nationales que les eaux résiduaires issues d'établissements ayant des activités liées à la collecte et au traitement des sous-produits animaux et susceptibles de contenir des ATNC ne sont plus obligatoirement traitées thermiquement. Cette question spécifique sera abordée dans la suite de l'avis.

<sup>9</sup> Réseau de collecte eaux pluviales distinct du réseau de collecte eaux usées.

<sup>10</sup> Prétraitement comprenant *a minima* un dégrillage et le cas échéant un tamisage, un dessablage et un dégraissage.

## II. *Etat des lieux des pratiques de terrain*

Les données de terrain ont été obtenues sur la base des informations transmises par les professionnels du secteur lors de leur audition, ou à l'occasion de la visite d'un établissement de transformation de sous-produits de catégories 1 et 2. L'annexe 2 présente les schémas de traitement et de valorisation des effluents du site visité.

Une seconde source d'information importante correspond aux résultats de l'enquête réalisée par les services du Ministère de l'écologie, de l'énergie, du développement durable et de la mer concernant le traitement des effluents des installations de transformation de catégories 1 et/ou 2 (avril 2010).

- Selon le syndicat des industries françaises des coproduits animaux (SIFCO) :  
« En fonction des installations, différents types de traitement des eaux usées sont mis en place.

*Sur 11 usines de transformation traitant des sous-produits C1 et C2 (les 10 premiers sites représentant 99,9 % des tonnages de sous-produits transformés) :*

- 4 sites ne disposent que d'une station d'épuration (STEP) privée,
- 3 sites disposent d'une station d'épuration privée et d'oxydeur(s) thermique(s),
- 3 sites ne disposent que d'oxydeur(s) thermique(s),
- 1 site recycle l'ensemble de ses eaux usées dans le circuit de transformation des sous-produits animaux de catégories 1 et 2.

*Sur 44 établissements intermédiaires traitant des sous-produits de catégories 1 et 2 :*

- 3 sites disposent d'une station d'épuration privée (dont une qui renvoie ses eaux épurées vers une usine de transformation C1-C2),
- 41 sites renvoient leurs eaux usées vers une usine de transformation C1-C2.

*Sur 27 usines de transformation traitant des sous-produits de catégorie 3 :*

- 10 sites ne disposent que d'une station d'épuration privée,
- 5 sites renvoient leurs eaux usées vers une station d'épuration urbaine,
- 2 sites renvoient d'une STEP privée vers une STEP urbaine,
- 2 sites disposent d'une station d'épuration privée et d'oxydeur(s) thermique(s),
- 1 site renvoie ses eaux usées vers une STEP urbaine et disposent d'oxydeur(s) thermique(s),
- 2 sites ne disposent que d'oxydeur(s) thermique(s).
- 4 sites renvoient leurs eaux usées vers une usine de transformation C3,
- 1 site renvoie ses eaux usées vers une usine de transformation C1-C2.

*Sur 21 établissements intermédiaires traitant des sous-produits de catégorie 3 :*

- 1 site dispose d'une station d'épuration privée,
- 13 sites renvoient leurs eaux usées vers une station d'épuration urbaine,
- 3 sites envoient directement en irrigation, infiltration ou drainage,
- 4 sites renvoient leurs eaux usées vers une usine de transformation C1 ou C3. »

- Selon l'association professionnelle Céleste<sup>11</sup>, « une enquête a été menée en 2009 auprès de 48 entreprises d'abattage (38 abattoirs d'animaux de boucherie et 10 abattoirs de volaille). Trois quart des entreprises étaient raccordées au réseau d'assainissement, les autres disposaient de leur propre STEP. Les entreprises dotées de station sont celles qui traitent les plus gros tonnages et plus de la moitié du tonnage traité (54%) s'effectue dans des établissements dotés de STEP autonome. Ce chiffre atteint même 80% dans le secteur de la volaille ».

<sup>11</sup> Association regroupant des membres des familles professionnelles suivantes : CNADEV / Coop de France Bétail et Viande / FIA / FNEAP / FNICGV / SNIV-SNCP.

## **1. Usines de transformation et établissements intermédiaires de sous-produits animaux de catégories 1 et 2**

D'après les professionnels auditionnés, les eaux traitées correspondent aux eaux de pluie souillées, aux eaux provenant du traitement des rejets gazeux des usines (en particulier les vapeurs produites par les cuiseurs), aux eaux provenant du nettoyage des conteneurs, des sols et des bâtiments et des aires de lavage des moyens de transport, aux fluides provenant des matières premières (pressées ou pas), des chaînes de dépouille et des graisses de flottation. Ces eaux sont tamisées, préfiltrées puis traitées dans des stations d'épuration privées lorsqu'elles existent. Les établissements disposant d'un oxydeur thermique (initialement conçu pour le traitement des buées) peuvent éliminer une partie de leurs effluents par ce procédé.

A l'issue du traitement d'épuration, les boues des STEP privées sont recyclées dans le circuit de traitement des matières de catégorie 1 (en tête de process). L'épandage de ces boues sur des terrains destinés aux cultures et aux pâturages est soumis à une autorisation préfectorale. La réglementation prévoit qu'en l'absence de risque lié à la présence de pathogènes, un délai de sécurité de 21 jours sépare l'épandage des boues de la pâture par des animaux d'élevage. Ce délai est porté à six semaines s'il n'est pas fait état d'absence de risque lié à la présence de pathogènes.

Les effluents peuvent être rejetés dans le milieu naturel ou utilisés pour l'irrigation de cultures (maïs, blé et colza) mais aussi de plantations (arbres) ou en infiltration. Dans le cas où ils sont utilisés pour arroser des plantes destinées à des animaux d'élevage ou des parcelles utilisées comme pâturage, un délai de 21 jours sépare le pâturage ou la récolte du dernier arrosage. A noter que bien que la réglementation (notamment les arrêtés du 12 février 2003 précités) ne prévoit aucune disposition relative à l'irrigation de cultures ou plantations, celle-ci est déjà réalisée.

Lors de leur audition, les professionnels ont indiqué que les filières de traitement des effluents provenant des usines de transformation de sous-produits animaux de catégories 1 et 2 et de certains établissements intermédiaires de catégories 1 et 2 peuvent mettre en œuvre des procédés membranaires de filtration. L'exemple d'un site recourant à l'ultrafiltration a été mentionné avec une revendication portant sur la rétention des particules supérieures à 40 nm.

D'après les résultats de l'enquête réalisée par le MEEDDM, 13 établissements français traitent des sous-produits de catégories 1 et 2. Parmi eux :

- 7 poursuivent le traitement thermique des effluents (133°C/20 min/3 bars) ;
- 6 ont arrêté la stérilisation de leurs effluents qui sont dirigés (sauf dans un cas) après prétraitement vers une station d'épuration dédiée à l'installation. A noter que 3 installations ont déclaré mettre en œuvre une ultrafiltration.

Pour ce qui concerne les rejets aqueux des 6 établissements ayant arrêté le traitement thermique :

- 4 établissements pratiquent un rejet en rivière ;
- 1 établissement valorise l'eau en irrigation ou l'élimine par infiltration ;
- aucune information n'est disponible pour le dernier établissement.

Enfin, pour ce qui concerne le devenir des boues de ces 6 établissements :

- 4 établissements réintroduisent les boues dans le circuit de traitement des sous-produits.
- 2 établissements bénéficient d'une dérogation préfectorale pour l'épandage des boues.

L'arrêté du 25 avril 2008 rend possible le rejet dans l'environnement des effluents issus du traitement des sous-produits animaux de catégorie 1 sans traitement thermique préalable (133°C/20 minutes /3 bars).

Les experts ont visité un site de transformation de catégories 1 et 2 où les effluents sont encore traités thermiquement par la méthode 1 (133°C/20 min/3 bars) avant rejet vers le milieu naturel ou utilisation en irrigation (saules et prairies appartenant au site).

## **2. Abattoirs :**

D'après les professionnels auditionnés, les eaux résiduaires sont dégrillées avec une maille inférieure ou égale à 6 mm, parfois tamisées avec une maille comprise entre 0,6 et 0,75 mm, transitent par une unité de flottation des graisses puis sont collectées et transportées vers une station d'épuration (privée ou urbaine).

Les matières récupérées lors du traitement des eaux en aval du crible à 6 mm sont considérées comme des déchets selon la réglementation ICPE<sup>12</sup> : elles peuvent être utilisées en épandage, compostage ou méthanisation (sous réserve du respect de la réglementation). Les boues issues du traitement d'épuration (que la STEP soit privée ou urbaine) sont épandues (sous réserve du respect de la réglementation).

A noter, qu'en fonction de l'espèce animale traitée et des différents ateliers, les abattoirs peuvent avoir à gérer des matières des trois catégories.

## **3. Etablissements intermédiaires traitant des sous-produits de catégorie 3 et usines de transformation de sous-produits animaux de catégorie 3 :**

D'après les professionnels auditionnés, les eaux résiduaires de ces établissements, au nombre de 48, représentant 90% des établissements membres du SIFCO, sont dessablées, tamisées à travers un crible de 6 mm au plus, dégraissées et stockées dans des bassins tampon imperméabilisés permettant un lissage des productions sur une semaine. Ces eaux sont ensuite renvoyées vers des STEP urbaines dans 19 installations (40% des cas) ou traitées dans des installations privées (station d'épuration, oxydeur thermique). Elles sont alors « brûlées » dans 6-7% des cas dans des oxydeurs thermiques ou sont traitées par voie biologique, clarifiées ou ultrafiltrées avant d'être stockées dans des lagunes naturelles et rejetées dans l'environnement (rejet direct, irrigation et infiltration) dans 53% des cas.

Les eaux des stations d'épuration dédiées au traitement des effluents provenant des établissements intermédiaires de catégorie 3 et des usines de transformation de sous-produits de catégorie 3 peuvent être utilisées pour irriguer des cultures mais lorsqu'elles sont utilisées pour arroser des plantes destinées à l'alimentation des animaux d'élevage ou des parcelles utilisées comme pâturages, un délai de 21 jours sépare le pâturage ou la récolte du dernier arrosage. Les boues de ces installations sont épandues sur des terrains destinés aux cultures et au pâturage ou valorisées énergétiquement. Un délai de 21 jours sépare l'épandage des boues du pâturage des animaux d'élevage.

---

<sup>12</sup> Installation classée pour la protection de l'environnement.

### III. Identification et caractérisation des dangers biologiques

#### 1. Caractérisation des dangers biologiques potentiellement présents dans les effluents issus des différents établissements

De nombreux agents pathogènes peuvent contaminer les effluents liquides des abattoirs et des établissements de collecte, de stockage, de manipulation ou de traitement des sous-produits d'origine animale des catégories C1, C2 ou C3.

Ces agents peuvent, notamment lorsque leur concentration initiale dans ces effluents est suffisamment importante, se retrouver dans les boues et/ou les eaux issues des traitements en station d'épuration.

Ils peuvent avoir deux origines : l'animal lui-même (animal sur pied, carcasse, viscères, fragments de tissus...) ou l'établissement dont les surfaces peuvent être contaminées par des agents susceptibles d'y persister (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*...). La liste des agents pathogènes hébergés par l'animal dépend de son espèce, de son origine géographique et de son statut sanitaire. Ces agents seront en outre différents suivant le type d'établissement concerné (abattoir ou établissement de collecte, de stockage, de manipulation ou de traitement des sous-produits d'origine animale de catégories C1 à C3).

Seuls sont considérés dans les tableaux ci-dessous les agents pathogènes dont la résistance ou la capacité de sporuler leur permettent de persister significativement dans les effluents, avec une attention particulière aux agents transmis par la voie alimentaire.

##### a. Analyse des dangers associés aux agents transmissibles non conventionnels

Les ATNC sont les agents pathogènes responsables des encéphalopathies spongiformes transmissibles. Les EST forment un groupe d'affections neurodégénératives fatales affectant l'homme et l'animal. Il s'agit principalement pour les bovins des ESB (classique et atypiques) et chez les petits ruminants des tremblantes (classiques et atypiques). Chez l'homme, les EST les plus fréquentes sont la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ sporadique, familiale, iatrogène et nouveau variant), à l'insomnie fatale familiale, au kuru et au syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker. D'autres espèces sauvages ou domestiques sont susceptibles de développer une EST (félidés, cervidés...). Ces maladies n'ont pas été retrouvées naturellement à ce jour chez les porcs et les volailles.

Les ATNC se répliquent majoritairement dans le système nerveux central de l'hôte infecté. Les titres infectieux au stade terminal de la maladie varient en fonction de la souche d'agent et de l'espèce infectée mais peuvent communément atteindre jusque  $10^{10} \text{DI}_{50}^{13} / \text{g}$  cerveau. Les organes lymphoïdes sont aussi fréquemment infectieux, en particulier dans la tremblante classique, mais à un degré moindre. Certains de ces tissus (système nerveux central et tissu lymphoïde) font partie des MRS.

Seul l'ATNC responsable de l'ESB classique est classé actuellement comme agent zoonotique<sup>14</sup>, car responsable de la forme variante du la MCJ. L'agent ESB-L, responsable de cas d'ESB atypiques récemment découverts, présente un potentiel zoonotique important (Beringue *et al.*, 2008; Comoy *et al.*, 2008; Kong *et al.*, 2008). Pour la tremblante classique, si elle a toujours été considérée comme non zoonotique, il convient cependant de nuancer cette affirmation. En effet, dans un avis récent (en date du 7 avril 2010), l'Afssa a considéré que si la transmission de la tremblante à l'homme n'était pas établie, il n'était pas non plus possible de l'exclure. Pour la tremblante atypique, sa découverte est trop récente pour disposer d'un recul d'expérience suffisant permettant d'évaluer son potentiel zoonotique.

<sup>13</sup> Dose létale pour 50% de la population inoculée.

<sup>14</sup> Maladie qui peut se transmettre de l'animal à l'homme ou de l'homme à l'animal.

i. Résistance aux procédés d'inactivation

Les ATNC sont des agents infectieux qui sont parmi les plus résistants aux procédés classiques de décontamination (chaleur sèche, irradiation...). Seuls certains traitements chimiques (hypochlorite de sodium à 11 ppm, NaOH 1M, 1 heure) ou thermiques (autoclavage 134-138°C, 20 min, 3 bars) permettent une réduction significative des titres infectieux. Il convient de noter qu'il s'agit généralement de procédures d'inactivation des ATNC et non de stérilisation, et que des variations notables de résistance sont observées en fonction des souches d'ATNC (Giles *et al.*, 2008). Un tissu ou matériel de haute infectiosité doit être incinéré à une température supérieure à 800 °C avec combustion ou pyrolyse pour destruction (circulaire DGS/5 C/DHOS/E 2 n° 2001-138 du 14 mars 2001).

ii. Persistance dans l'environnement

Les ATNC sont capables de persister dans l'environnement pendant des années sans perdre leur pouvoir infectieux. Cette notion, déjà ancienne, provenait de l'observation que des moutons pouvaient contracter la tremblante en pâturant sur des prairies préalablement occupées par des animaux malades (Greig *et al.*, 1940). Une étude épidémiologique islandaise faisant suite à des essais d'éradication de la tremblante dans ce pays au début des années 1980, a montré que les ATNC étaient capables de persister dans l'environnement au minimum 16 ans (jusqu'à 21 ans), et d'être toujours hautement infectieux (Georgsson *et al.* 2007). Les mêmes observations ont été expérimentalement reproduites aux USA avec la maladie du dépérissement chronique des cervidés (Miller *et al.*, 2004), très proche physiopathologiquement de la tremblante du mouton.

Des études se basant sur des modèles de tremblante adaptés aux rongeurs de laboratoire (souche 263K de hamster) ont montré que l'enfouissement pendant 3 ans d'un tissu cérébral infecté ne réduisait la charge infectieuse qu'approximativement d'un facteur 60. (Brown, Gajdusek, 1991). Cette même étude montre par ailleurs que l'essentiel de l'infectiosité est resté à l'endroit de l'enfouissement. Les eaux de ruissellement ne semblent pas avoir eu d'effet « percolateur » majeur. Cette étude a été reproduite plus récemment par Seidel *et al.* (2007). La souche 263K de hamster est toujours capable d'infecter des animaux receveurs 21 mois après enfouissement dans le sol, ce par voie orale. L'extrait du sol contaminé et de la zone avoisinante avec de l'eau additionnée de détergent (dodécylsulfate de sodium (SDS)) se révèle être aussi infectieux, mais à un degré moindre. Les mécanismes moléculaires à l'origine de cette persistance sont très probablement liés au fait que la protéine prion pathologique (PrPSc), composante essentielle des ATNC, s'adsorbe très fortement et de manière très efficace à différents types de sol (craie, sols sableux) ainsi qu'à ses composants minéraux (quartz, montmorillonite, et à un degré moindre kaolinite) (Johnson *et al.*, 2006 ; Genovesi *et al.*, 2007 ; Ma *et al.*, 2007). La désorption de la PrPSc nécessite des traitements très drastiques (ex. SDS, 100°C). Ainsi les changements de force ionique, les détergents non dénaturants ou les agents chaotropiques sont très peu efficaces (Johnson *et al.*, 2006 ; Rigou *et al.*, 2006). Johnson *et al.* ont par ailleurs étudié expérimentalement les conséquences de l'adsorption des ATNC à la montmorillonite sur leur infectiosité par voie orale, afin de mimer la voie d'infection naturelle de l'hôte. Une première étude de leur groupe (Johnson *et al.*, 2006) montre un maintien des titres infectieux initiaux (Johnson *et al.*, 2007). Une étude plus poussée de ce groupe (Johnson 2007) montre que lorsqu'ils sont en faible quantité dans le sol, les complexes ATNC-particules du sol ont une infectiosité apparente nettement supérieure à celle des ATNC non complexés, l'augmentation de titre approchant les 3 log d'infectiosité (du fait peut-être d'une meilleure biodisponibilité ou d'une dégradation inférieure).

Les études disponibles permettent de conclure sans ambiguïté que l'adsorption des ATNC dans le sol est tenace, qu'elle réduit leur migration et qu'elle peut conduire à un effet potentialisateur. Il est admis que ce réservoir environnemental d'infectiosité contribue de manière significative à la transmission horizontale des EST, en particulier de la tremblante chez les petits ruminants, et de la maladie du dépérissement chronique des cervidés. Cette transmission horizontale constitue un facteur clé dans la persistance et la propagation de ces deux EST, et contribue à leur caractère quasi-enzootique dans certaines zones géographiques.

iii. Aspects quantitatifs liés aux agents transmissibles non conventionnels

Le risque ATNC, qui augmente avec l'âge des animaux, concerne la tremblante (classique et atypique) chez les petits ruminants et l'ESB (épizootique et cas atypiques) chez les bovins.

L'ESB est une maladie pour laquelle une surveillance active, basée sur la détection de la PrPSc dans le cerveau des animaux, a été mise en place depuis le début des années 2000. Ainsi chaque année, environ 300 000 bovins de plus de 24 mois sont traités dans les établissements de transformation de catégorie 1 (données DGAI) et sont testés au regard de la présence de la protéine prion. A l'abattoir, tous les animaux de plus de 48 mois sont testés (1,8 millions de tests par an) et les MRS sont retirés. Les données 2009 font état de 11 cas d'ESB (6 classique, 2 type H, 3 type L)<sup>15</sup>.

Pour la tremblante (classique et atypique) chez les petits ruminants, seuls des sondages aléatoires sont réalisés. Le nombre de cas à l'abattoir et à l'équarrissage est donc connu avec moins de certitude. La prévalence estimée cumulée de la tremblante classique et atypique est voisine de 1 pour 1000 en France. Parmi les 400 000 ovins adultes traités dans les établissements de catégorie 1 chaque année (données 2009), 400 sont donc probablement atteints de tremblante. Cette estimation est conforme aux sondages importants, réalisés durant les années 2005-2007 (plus de 300 cas / an). A cela s'ajoute les MRS retirés à l'abattoir et qui sont éliminés en tant que sous-produits de catégorie 1.

A ce jour, un nombre significatif de cas d'EST animales transite donc par les abattoirs et les établissements de collecte, de stockage, de manipulation ou de traitement des sous-produits d'origine animale des catégories C1 ou C2. Au regard de l'organisation des filières et de l'évolution épidémiologique des maladies, le risque lié aux ATNC est significativement plus important au niveau des établissements traitant des C1 et concerne plus particulièrement les petits ruminants.

**b. Analyse des dangers associés aux agents transmissibles conventionnels**

i. Identification des agents transmissibles conventionnels

Les dangers liés aux agents transmissibles conventionnels (ATC) susceptibles d'être émis dans les eaux usées des établissements peuvent être classés en trois catégories : dangers habituels, occasionnels ou exceptionnels.

Les **agents pathogènes (ou potentiellement pathogènes) habituels** (tableau 2) sont ceux susceptibles d'être hébergés chez les animaux quel que soit leur statut, y compris lorsqu'ils sont réputés sains ou lorsque leur état, contrôlé lors de l'examen clinique *ante mortem*, permet de penser qu'ils ne présentent aucun risque pour le consommateur. Ces animaux peuvent être en effet porteurs (occasionnels ou permanents) d'agents pathogènes (ou potentiellement pathogènes) variés, présents sur leurs peaux et phanères, leurs muqueuses, dans leur tube digestif ou dans leurs tissus.

L'intestin en particulier peut héberger, sans que les animaux en soient affectés cliniquement, des bactéries (entérobactéries telles que *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* ou *Yersinia sp.*, *Listeria sp.*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, bactéries sporulées telles que *Clostridium perfringens* ou *Clostridium botulinum...*, mycobactéries comme *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, etc.), des virus entérotropes (*Enterovirus*, *Rotavirus*, *Norovirus...*), des protozoaires (cryptosporidies, et autres coccidies), des organismes proches (microsporidies, *Giardia*, *Blastocystis*) et des helminthes. Certaines bactéries environnementales sont en outre naturellement présentes dans les sols (*Clostridium sp.*, *Listeria sp.*, etc.) et peuvent être absorbées lors du pâturage.

Il faut ajouter à cette liste des agents pathogènes très répandus dans certaines productions et plus ou moins maîtrisés par des pratiques sanitaires ou vaccinales. On peut citer les exemples, en production porcine, du *Parvovirus* ou du *Circovirus* de la maladie de l'amaigrissement du porcelet (MAP).

<sup>15</sup> Données : Afssa Lyon

Tableau 2 : **Liste des agents pathogènes habituels (ATC) avec un impact potentiel en France en santé animale et /ou humaine :**

Bactéries	Virus	Parasites
<b><i>Brachyspira pilosicoli</i></b> (pc, vol) <i>Brachyspira hyodysenteriae</i> (pc) <b><i>Campylobacter thermotolerans</i></b> (pc, vol) <b><i>Chlamydomphila psittaci</i></b> (vol) <b><i>Clostridium perfringens</i></b> (toutes espèces) <b><i>Clostridium tetani</i></b> (mam) <b><i>Clostridium botulinum</i></b> (vol) Autres <i>Clostridium sp.</i> (mam) <b><i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i></b> (pc, ov, vol) <b><i>Escherichia coli</i></b> entéropathogènes <b><i>Listeria monocytogenes</i></b> (toutes espèces) <b><i>Mycobacterium avium</i></b> (vol, pc), <i>Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis</i> (rum) <b><i>Rhodococcus equi</i></b> (eq) <b><i>Salmonella spp.</i></b> (toutes espèces) <b><i>Staphylococcus sp.</i></b> (toutes espèces) <b><i>Streptococcus sp.</i></b> (toutes espèces) <b><i>Yersinia enterocolitica</i></b> (toutes espèces) <b><i>Yersinia pseudotuberculosis</i></b> (vol, lap)	<i>Birnavirus</i> (vol : maladie de Gumboro) <i>Circovirus</i> (pc : maladie d'amaigrissement du porcelet) <i>Enterovirus</i> (pc) <i>Herpesvirus</i> (vol : peste du canard) <i>Herpesvirus</i> (vol : maladie de Marek) <b><i>Hepevirus de l'hépatite E</i></b> (pc) <i>Norovirus</i> (pc) <i>Parvovirus</i> (pc : parvovirose) <i>Parvovirus</i> (vol: maladie de Derszy) <i>Pestivirus</i> (bv : maladie des muqueuses) <i>Reovirus</i> (vol) <i>Rotavirus</i> (bv : entérites à Rotavirus) <i>Rotavirus</i> (pc : entérites à Rotavirus) <i>Sapovirus</i> (pc)	<i>Ascaris sp.</i> <b><i>Balantidium coli</i></b> (pc) <i>Capillaria spp.</i> (rum, vol) <b><i>Cryptosporidium sp.</i></b> (rum, eq, pc) Coccidies (rum, vol) <b><i>Giardia intestinalis</i></b> <b><i>Microsporidies</i></b> (mam, vol) <i>Oxyurus sp.</i> (cv) <i>Parascaris equorum</i> (eq) Strongles (toutes espèces) <i>Strongyloides sp.</i> (toutes espèces) <b><i>Toxocara spp.</i></b> <i>Toxocara vitulorum</i> (bv) <i>Trichuris sp.</i> (rum) <b><i>Trichuris suis</i></b> (pc)

Remarque 1 : Apparaissent en gras dans le tableau les agents pathogènes ayant un impact potentiel en santé animale et en santé humaine

Remarque 2 : Sont indiquées entre parenthèse les principales espèces émettrices, avec les abréviations suivantes:  
bv : bovins                      cp : caprins                      eq : équins                      lap : lapins  
mam : mammifères              pc : porc                          vol : volailles                  ov : ovins  
rum : ruminants

Les **agents pathogènes occasionnels** (tableau 3) sont observés dans deux situations :

- lors de l'inspection sanitaire à l'abattoir, certaines infections, telles que métrites, mammites, arthrites, abcès, sont découvertes chez des animaux et justifient une saisie partielle ou totale.
- Les animaux éliminés dans le cadre du plan de lutte contre certaines maladies animales encore présentes en France peuvent être menés à l'abattoir, lorsque le risque de diffusion est limité et maîtrisable : c'est le cas des ruminants provenant de troupeaux reconnus atteints de tuberculose, des porcs issus de cheptels reconnus brucelliques, des poulets et des dindes issus de cheptels reconnus infectés par exemple par *Salmonella* Typhimurium ou Enteritidis.

**Tableau 3 : Liste des agents pathogènes occasionnels (ATC) avec un impact potentiel en France en santé animale et /ou humaine :**

Bactéries	Virus	Parasites
<i>Arcanobacterium pyogenes</i> (pc, vol) <b><i>Bacillus anthracis</i></b> (mam) <b><i>Brucella suis biovar 2</i></b> (pc) <i>Brucella ovis</i> (ov) <b><i>Burkholderia pseudomallei</i></b> (eq) <b><i>Chlamydophila ovis</i></b> (rum) <b><i>Chlamydophila abortus</i></b> (rum) <i>Corynebacterium ovis</i> (ov, cp) <i>Coxiella burnetii</i> (rum) <b><i>Francisella tularensis subsp. holarctica</i></b> <b><i>Leptospira interrogans</i></b> (mam) <b><i>Mycobacterium bovis</i></b> (mam) <i>Salmonella Abortus ovis</i> (ov)	<i>Coronavirus</i> (pc : gastroentérite transmissible) <i>Coronavirus</i> (bv : entérite) <i>Lagovirus</i> (lap : maladie virale hémorragique) <i>Paramyxovirus</i> (vol : maladie de Newcastle) <i>Pestivirus</i> (ov : border disease)	<i>Dicrocoelium sp.</i> (ov) <b><i>Fasciola hepatica</i></b> (rum, pc, eq) <i>Paramphistomum sp.</i> (rum)

Remarque 1 : Apparaissent en gras dans le tableau les agents pathogènes ayant un impact potentiel en santé animale et en santé humaine

Remarque 2 : Sont indiquées entre parenthèse les principales espèces émettrices, avec les abréviations suivantes:

bv : bovins                      cp : caprins                      eq : équins                      lap : lapins  
 mam : mammifères              pc : porc                      vol : volailles                  ov : ovins  
 rum : ruminants

Les **agents pathogènes exceptionnels** (tableau 4) sont liés à l'introduction ou à la réintroduction d'une maladie absente du territoire français métropolitain, à caractère épizootique (comme la fièvre aphteuse, la peste porcine ou l'influenza dû à une souche virale hautement pathogène) ou non épizootique (brucellose à *Brucella abortus* ou *Brucella melitensis* par exemple).

Dans le cas d'une maladie à caractère épizootique, les animaux des cheptels suspects ou atteints ne sont pas normalement dirigés vers un abattoir. Ce risque existe néanmoins lorsque des animaux sont présentés à l'abattoir avant que la maladie n'ait été diagnostiquée et l'alerte sanitaire enclenchée (découverte de la maladie lors des examens *ante-* ou *post-mortem* à l'abattoir), lorsque l'épizootie n'est pas maîtrisée, ou lorsque l'abattoir est situé en zone réglementée.

Dans le cas d'une maladie non épizootique, certains animaux peuvent être acheminés vers l'abattoir, de façon fortuite, ou dans le cadre réglementaire (brucellose des ruminants en particulier).

**Tableau 4 Liste des agents pathogènes exceptionnels (ATC) avec impact potentiel en France en santé animale et /ou humaine :**

Bactéries	Virus	Parasites
<b><i>Brucella abortus</i></b> (bv) <b><i>Brucella melitensis</i></b> (ov, cp, bv) <b><i>Brucella suis biovar 1 et 3</i></b> (pc) <b><i>Burkholderia mallei</i></b> (eq)	<i>Aphthovirus</i> (rum, pc : fièvre aphteuse) <i>Asfivirus</i> (pc : peste porcine africaine) <i>Enterovirus</i> (pc : maladie vésiculeuse des suidés) <i>Herpesvirus</i> (pc : maladie d'Aujeszky) <i>Orthomyxovirus</i> (vol : Influenza aviaire hautement pathogène) <i>Pestivirus</i> (pc : peste porcine classique) <i>Teschovirus</i> (pc : maladie de Teschen)	<b><i>Linguatula serrata</i></b> (rum, lap, eq, pc)

Remarque 1 : Apparaissent en gras dans le tableau les agents pathogènes ayant un impact potentiel en santé animale et en santé humaine

Remarque 2 : Sont indiquées entre parenthèse les principales espèces émettrices, avec les abréviations suivantes:

bv : bovins	cp : caprins	eq : équins	lap : lapins
mam : mammifères	pc : porc	vol : volailles	ov : ovins
rum : ruminants			

## ii. Cas des abattoirs

Avant l'entrée dans l'abattoir, les fèces et urines des animaux en salles de stabulation sont collectés sous forme de purin, lisier ou fumier, et n'entrent pas, *a priori* dans le circuit normal des eaux usées de l'abattoir. Cependant ces zones sont raclées puis rincées et ces eaux de lavage rejoignent le circuit de collecte.

Durant les différentes étapes de préparation des carcasses et de collecte des abats et des sous-produits, les agents pathogènes entraînés avec les eaux usées sont avant tout ceux présents ou transitant par le tube digestif (émis notamment lors du lavage des boyaux). Ils correspondent aux agents pathogènes précédemment identifiés comme habituels. La charge en pathogène peut être importante en raison du grand nombre d'animaux abattus.

Les agents pathogènes peuvent également provenir des fragments de tissus et liquides divers répandus sur le sol ou le matériel (lors de la saignée, de la dépouille ou de la fente...) et entraînés par les eaux de lavage. Ils correspondent essentiellement aux agents pathogènes identifiés précédemment comme occasionnels. Le renforcement de l'information sanitaire accompagnant les animaux de rente (ICA) à l'abattoir permet d'identifier plus efficacement une partie de ces agents pathogènes occasionnels. Il faut cependant souligner que certaines pathologies ne seront découvertes que lors de l'inspection à l'abattoir.

En conclusion, en dehors d'événements exceptionnels, les ATC éventuellement présents dans les eaux usées des abattoirs correspondent principalement aux agents pathogènes de la flore du tractus digestif et de la peau, et aux agents pathogènes déjà présents dans une majorité des cheptels. Ils s'apparentent donc aux ATC présents dans les effluents des élevages et des salles de stabulation des abattoirs. Cependant, une plus grande diversité d'agents pathogènes pourra être observée à l'abattoir par rapport aux élevages, les animaux abattus ayant de multiples origines et appartenant à des cheptels de profil sanitaire variable.

## iii. Cas des établissements de collecte, de stockage, de manipulation ou de traitement des sous-produits d'origine animale de catégorie C3

Les sous-produits de catégorie 3 issus des établissements d'abattage et de transformation peuvent être considérés comme indemnes d'agents pathogènes, à l'exception de contaminants de surface éventuels, essentiellement des bactéries issues du tube digestif ou des locaux de stockage et de transformation (*Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter sp.*, *Clostridium perfringens*...), identiques à ceux rejetés dans les eaux résiduaires urbaines à la faveur des opérations de transformation des viandes et lors des préparations ménagères ou de l'élimination des eaux grasses.

En conclusion, les ATC éventuellement présents dans les effluents de ces établissements (C3) sont essentiellement des contaminants de surface. Il peut s'agir, très occasionnellement, notamment en période d'épizootie, d'agents pathogènes spécifiques dont les animaux peuvent être porteurs inapparents.

iv. Cas des établissements de collecte, de stockage, de manipulation ou de traitement des sous-produits d'origine animale de catégories C1-C2

Les agents pathogènes susceptibles de contaminer les effluents liquides de ces établissements, ont essentiellement pour origine les écoulements (fèces, exsudats, sang...) accumulés dans les bennes des véhicules de collecte, les cuves et les zones de stockage, les zones de déchargement et les aires de transformation, ainsi que les débris de tissus (sang, placenta, etc.) entraînés par les eaux de lavage des véhicules, surfaces et matériels. Ils sont variables selon l'espèce animale, la zone géographique et la maladie ayant causé la mort des animaux ou les saisies en abattoir. Cependant, dans ces établissements, la gamme d'espèces animales prises en charge est beaucoup plus importante et peut inclure des carnivores et omnivores, sauvages et domestiques. En outre, les œufs de cestodes des genres *Echinococcus*, ainsi que des ascarides pourraient contaminer les eaux usées de ces établissements.

L'ensemble des agents pathogènes conventionnels listés dans les tableaux de 2 à 4 sont éventuellement présents dans les effluents des établissements de collecte, de stockage, de manipulation ou de traitement des sous-produits d'origine animale de catégories C1-C2. Par ailleurs ces établissements sont destinataires des cadavres et des animaux abattus dans le cadre des mesures de police sanitaire, ce qui ajoute aux dangers précédents une grande variété de dangers spécifiques, non prévisibles, responsables de la mort ou de l'euthanasie des animaux.

c. Hiérarchisation des agents transmissibles conventionnels en fonction de leur risque de transmission aux animaux et à l'homme dans les effluents bruts

Le risque de contamination pour l'homme et les animaux dépend notamment de la probabilité d'émission des agents pathogènes dans les effluents bruts, de leur concentration et de leur pathogénicité, et au final de leur probabilité d'entraîner une infection par la voie alimentaire aux concentrations rencontrées.

Dans le cas de parasites, leur impact dépendra aussi de leur pouvoir infestant direct (exemple des oocystes de *Cryptosporidium spp.*), de la période de maturation dans le sol (œufs des ascarides) ou de la possibilité de parvenir à un milieu facilitant la rencontre avec l'hôte intermédiaire (par exemple les gastéropodes hôtes intermédiaires des trématodes). Les principaux agents pathogènes retenus sont donc ceux émis de façon fréquente, à des concentrations initiales suffisamment importantes et dont la résistance ou la capacité de sporuler leur permet de persister dans les effluents.

Les agents pathogènes portés de façon fréquente par des animaux sauvages ou domestiques (chiens, chats) n'ont pas été retenus, et contribuent certainement à une dissémination significative mais non imputable aux effluents.

Le traitement épuratoire des eaux usées associé ou non à des délais d'attente avant la mise au pré des animaux ou au traitement thermique des végétaux, devra ensuite permettre de maîtriser ces dangers.

i. Pour la santé animale

Les agents appartenant au groupe d'agents désignés précédemment comme « dangers habituels », émis régulièrement et en quantité plus importante du fait du grand nombre d'animaux qui les hébergent, sont sans doute les plus susceptibles de contaminer les eaux traitées des abattoirs. Ces agents ne diffèrent pas, globalement, de ceux émis par les animaux dans les effluents d'élevage. On peut considérer cependant que le recours à ces eaux pour l'irrigation et l'arrosage peut contribuer à introduire dans un élevage un agent pathogène dont les animaux étaient jusque là exempts.

Le risque de diffusion des agents appartenant au groupe des « dangers occasionnels » est plus difficile à cerner, du fait d'une émission quantitativement plus faible et probablement irrégulière, lorsqu'il s'agit d'un abattoir. Le risque est en revanche plus important lorsqu'il s'agit d'un établissement d'équarrissage.

Le danger lié à l'apparition de cas de la fièvre charbonneuse (*Bacillus anthracis*) ou d'épizooties comme celles de fièvre aphteuse (*Aphthovirus*) ou de peste porcine classique (*Pestivirus*), est géré en amont dans les élevages atteints, et pris en compte par des mesures particulières de gestion des effluents pour les équarrissages concernés.

Dans le cas des pâturages irrigués, les espèces domestiques mises à l'herbe sont essentiellement les ruminants et équidés (ce qui n'est usuellement pas le cas pour les porcs, volailles et lapins).

Quel que soit l'établissement d'origine, outre les ATNC, les principaux agents pathogènes apportés spécifiquement par les effluents bruts sur des pâtures irriguées et présentant un risque de transmission pour les ruminants et les équidés sont donc les agents pathogènes habituels susceptibles de se transmettre par la voie digestive, notamment :

- des bactéries : *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium sp.*, *Rhodococcus equi*, *Salmonella spp.*, *Yersinia sp.* ;
- des virus : *Pestivirus* (maladie des muqueuses), *Rotavirus* ;
- des parasites *Cryptosporidium spp*, coccidies, strongles et ascarides.

## ii. Pour la santé humaine

Pour la santé humaine, parmi les agents pathogènes cités dans les tableaux 1, 2 et 3, seuls ceux ayant une probabilité d'entraîner une infection aux concentrations émises ont été retenus.

### • Bactéries

#### *Campylobacter* thermotolérants

La forte prévalence de portage sain de *Campylobacter* par les animaux d'élevage se traduit certainement par une contamination fréquente des effluents. La contamination humaine étant possible avec de très faibles quantités de *Campylobacter*, les effluents bruts sont donc potentiellement une source de contamination humaine.

#### *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines (STEC)

Les bovins et les ovins constituent les principaux réservoirs de STEC. Ce portage intestinal asymptomatique est responsable de la contamination de l'environnement et des effluents bruts à des concentrations certainement faibles mais présentant un risque potentiel de contamination humaine par ingestion de végétaux crus irrigués par ces effluents.

#### *Salmonella*

Dans la majorité des cas, les principaux sérotypes de salmonelles sont présents dans le tractus digestif des animaux, sans manifestation clinique.

Les effluents bruts contiennent des salmonelles à des concentrations faibles (inférieures à 100 bactéries/mL), mais qui présentent un risque potentiel de contamination humaine par ingestion de végétaux crus contaminés par irrigation avec ces effluents bruts.

#### *Yersinia enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis*

Le principal réservoir animal de *Y. enterocolitica* est le porc et plus occasionnellement d'autres espèces. *Y. pseudotuberculosis* est surtout retrouvée chez les oiseaux, et chez les mammifères sauvages et domestiques (surtout lagomorphes et rongeurs).

Bien que modérément résistante dans l'environnement, *Yersinia enterocolitica* peut contaminer les effluents bruts d'abattoir de porcs et se retrouver à des concentrations potentiellement dangereuses pour les consommateurs de végétaux crus irrigués par ces effluents.

### • Parasites :

En France métropolitaine, les oocystes de *Cryptosporidium*, les spores de microsporidies, certains champignons avec, apparemment, un grand potentiel zoonotique, posent des problèmes importants. Habituellement peu pathogènes pour les hôtes immunocompétents, ces agents atteignent des

concentrations faibles dans l'environnement dans des pays disposant d'un niveau d'hygiène élevé, ce qui rend plus difficile leur détection. Cependant, dans les eaux usées des abattoirs et des établissements de transformation de sous-produits de catégories 1 et 2, ces formes infectantes pourraient être concentrées.

#### *Cryptosporidium*

Les espèces de ce genre sont monoxènes (= un seul hôte) et infestent le tractus gastro-intestinal de nombreuses espèces de vertébrés dont l'Homme. Ubiquitaires, résistants à la désinfection par voie chimique, ces parasites constituent un risque infectieux environnemental non négligeable pouvant occasionner des infections sévères chez les immunodéprimés (Afssa, 2002).

#### *Giardia spp*

Ce sont des protozoaires flagellés dont il existe plusieurs espèces selon l'hôte. *G. intestinalis* est le protozoaire le plus commun au cours des infections intestinales humaines. Ce parasite infecte l'intestin grêle de l'homme et occasionnellement de nombreux mammifères (bovins, ovins, chevaux, porcs, chiens...), est extrêmement répandu dans le monde et responsable d'une importante morbidité (diarrhée pouvant devenir chronique chez les enfants). La voie de contamination la plus fréquente est celle par ingestion d'eau contaminée par des kystes.

#### *Microsporidies*

Depuis quelques années, ces microsporidies pathogènes pour l'homme sont retrouvées dans une vaste gamme de vertébrés et d'invertébrés marins ou d'eaux douces (Mathis *et al.*, 2005). Chez les patients immunodéprimés ou traités par immunosuppresseurs, les microsporidies peuvent induire des tableaux digestifs, viscéraux et systémiques sévères.

#### *Blastocystis spp* (Straminopiles)

Noel *et al.*, 2006 ont montré que les mêmes espèces se rencontrent chez l'homme et chez de nombreuses espèces animales ce qui suggère un fort potentiel zoonotique (Souppart *et al.*, 2009, 2010). *Blastocystis spp.* est impliqué dans le syndrome du colon irritable et d'autres affections inflammatoires de l'intestin.

Les agents transmissibles conventionnels pouvant être rencontrés dans les effluents et présentant un risque potentiel de contamination humaine sont donc pour les bactéries, les *Campylobacter* thermotolérants, les *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines, *Salmonella spp.* et *Yersinia enterocolitica*, et pour les parasites, *Cryptosporidium spp.*, les Microsporidies, *Blastocystis* et *Giardia spp.*

## **2. Persistance des dangers biologiques dans les effluents traités**

### **a. Cas des agents transmissibles non conventionnels**

Il n'y a à ce jour pas de preuve directe qu'une contamination liée à la présence d'ATNC dans les effluents traités ait eu lieu. Il convient cependant de signaler qu'il n'existe pas à ce jour de moyens techniques adaptés permettant de détecter la présence de ces agents ou de la protéine prion dans les effluents traités et/ou les boues. Par ailleurs, peu d'études ont modélisé expérimentalement le devenir spécifique de l'infectiosité des ATNC et/ou de la protéine prion pathologique dans les eaux traitées en sortie de STEP et/ou dans un environnement aquatique. Cependant :

- Hinckley *et al.* (2008) ont expérimentalement contaminé des eaux usées non épurées avec un ATNC expérimental de hamster (souche 263K). Ils montrent que ces eaux, une fois épurées/traitées, ne sont pas infectieuses et que l'essentiel de la PrP pathologique et de l'infectiosité sédimente avec les boues. La portée « quantitative » de ce résultat est cependant limitée par le fait que la mesure de l'infectiosité a été réalisée par bioessai chez des animaux receveurs, infectés par voie orale, voie connue pour être peu efficace dans ce modèle.

- Maluquer de Motes *et al.* (2008) ont volontairement contaminés des eaux usées de STEP urbaines par un homogénat de cerveau de mouton atteint de tremblante ou de bovin atteint d'ESB. La protéine est détectée jusque 15 jours post inoculation pour l'ESB et jusque 45 jours post inoculation pour la tremblante. La réduction de la quantité de protéine peut laisser supposer que le titre infectieux initial ne serait abaissé au plus que de 2 log d'infectiosité.

Bien que l'effet du traitement épuratoire par les boues activées sur l'infectiosité des ATNC n'ait pas été spécifiquement étudié, un certain nombre d'éléments issus en particulier d'expériences de dégradation de ces agents par la flore ou les protéases microbiennes permettent de penser que la réduction d'infectiosité sera relativement modeste. Bien que certaines enzymes soient capables de réduire significativement l'infectiosité des ATNC (Yoshioka *et al.* 2007 ; Dickinson *et al.* 2009), les conditions expérimentales nécessaires (température, conditions de pH, présence de détergents) ainsi que les bactéries produisant ces enzymes ne sont pas celles rencontrées dans les boues. Par ailleurs, ces effets sont à nouveau dépendants de la souche. Ainsi l'infectiosité ESB semble particulièrement résistante à ce type de traitement (Langeveld *et al.*, 2007). Enfin il est à noter que des animaux naturellement infectés peuvent excréter de l'infectiosité dans leurs fèces (Tamguney *et al.*, 2009), signe d'une résistance aux microbiotes intestinaux.

Afin de fournir des éléments quantitatifs quant à la persistance des ATNC dans les effluents traités puis épandus, le devenir de l'infectiosité d'un cerveau infecté par la tremblante au cours des différentes étapes d'inactivation/traitement appliquées dans les établissements de type C1 a été estimée grâce à un cas d'école<sup>16</sup>. La donnée initiale ayant servi à la simulation est issue de résultats préliminaires d'expériences en cours dans le laboratoire INRA/ENV Toulouse<sup>17</sup>, qui indiquent qu'une dose équivalente à 2 mg de cerveau infecté au stade terminal de tremblante classique tue 70% des animaux infectés par voie orale (vo). Cette dose correspond approximativement à la DL<sub>50</sub> (dose létale tuant 50% des animaux infectés). Le système nerveux central de mouton (qui pèse 200 à 300 g) contient donc approximativement 100 000 à 150 000 DL<sub>50</sub> vo.

A partir de cette approximation, deux scénarii différents peuvent être examinés par simulation (cf. tableau 5):

1<sup>er</sup> cas : le système nerveux central (125 000 DL<sub>50</sub> vo) passe en tête de process C1.

Ce cerveau subit un traitement thermique selon la méthode 1, 2, 3 ou 4. La méthode 1 permettra un abattement d'infectiosité de 3 log en moyenne (mais variable selon les souches). Les autres méthodes ne sont pas considérées comme permettant un abattement significatif. Les particules infectieuses passent ensuite le filtre de 6 mm. En assumant qu'une particule de 6 mm de diamètre est sphérique, cela lui donnerait une masse d'environ 0,1-0,2 g. Il est estimé que le filtre de 6 mm retient 99% du cerveau infecté. Il a également été estimé que l'essentiel de l'infectiosité (99%) se retrouvait dans les boues en se basant sur la publication de Hinckley *et al.*, 2008. A cette étape du process, un traitement des eaux par la méthode 1 permet au mieux un abattement de 7 log de l'infectiosité, les autres traitements ne permettant qu'un abattement de 4 log (soit 12,5 DL<sub>50</sub> vo). L'absence de stérilisation des effluents qui découle des prescriptions des arrêtés du 25 avril 2008 ne permet pas d'abattement supplémentaire. L'épandage ne dilue pas significativement l'infectiosité prions, du fait de la persistance et l'adsorption de ces agents dans le sol et de l'absence d'effet diluant lié à la surface épandue. L'épandage d'effluents provenant d'usines de transformation de type C1 ayant traité un cerveau infecté par la tremblante pourrait théoriquement conduire sans traitement thermique des effluents à contaminer 12 animaux par voie orale à une dose équivalente à la DL<sub>50</sub>. Dans le cas où l'effet potentialisateur de l'adsorption dans le sol (Johnson *et al.*, 2007) est intégré dans cette simulation, le risque est multiplié par 1000 et ce sont donc 1250 animaux qui peuvent en théorie être contaminés à une dose équivalente à la DL<sub>50</sub>.

2<sup>nd</sup> cas : le système nerveux central (125 000 DL<sub>50</sub> vo) contamine les eaux de lavage des camions ou des établissements intermédiaires. Ces eaux, au contact de systèmes nerveux centraux infectés pourraient contenir 0,1 à 1% de tissu contaminé (soit 125-1250 DL<sub>50</sub> vo). Deux traitements permettent comme dans le 1<sup>er</sup> scénario un abattement de 4 log de l'infectiosité ; 1) le filtre 6 mm, 2) le traitement par les boues. L'épandage des eaux traitées ne présente pas dans ce cas de figure de risque théorique à moins d'un effet potentialisateur. Dans le cas où un tel effet existerait, 12,5 animaux pourraient être infectés à une dose équivalente à la DL<sub>50</sub>.

A noter que le même type d'analyse peut être fait pour l'ESB. Il faut alors considérer que la dose minimale infectieuse est de l'ordre de 1 mg (Wells *et al.*, 2007) et que le système nerveux central d'un bovin pèse 1500g et que les traitements thermiques seront moins efficaces.

<sup>16</sup> A noter que cet exercice est restrictif puisqu'en général le mouton entier passe avec une contribution significative du tissu lymphoïde dans le calcul de l'infectiosité totale de l'animal.

<sup>17</sup> Communication personnelle O. Androletti.

**Tableau 5 : Estimation du risque basée sur un calcul destiné à fixer des ordres de grandeur.**

Hypothèse de travail : 1 cerveau infecté par la tremblante passe dans le circuit

	Meilleur des cas*	Pire des cas**	Remarques
mouton Oral DL50 (g)	0,002	0,002	Andréoletti <i>et al.</i> , données non publiées (> DL50) 1 cerveau mouton = 200 à 300 g
mouton Oral DL50 (cerveau)	125000	125000	
<b>Tête de process C1</b>	-	-	
Cuisson avec méthode de 1* à 4**	125	125000	Estimé 3 log d'abattement pour traitement 1 et rien pour les autres
Filtre 6 mm	1,25	1250	
Séparation Boues / Effluents	0,0125	12,5	Estimé que rétention de 99% par le filtre Estimé que 99% de l'infectiosité va dans boues, 1% dans les effluents (Hinckley <i>et al.</i> , 2008)
<b>Stérilisation Méthode 1</b>	0,0000125	NA	
Adsorption dans le sol / potentialisation	<b>0,0000125</b>	<b>12500</b>	Estimé 3 log d'abattement pour la tremblante Estimé absence d'effet à effet potentialisant de 3 log (Johnson <i>et al.</i> , 2007)
<b>Si absence de stérilisation des effluents</b>	<b>0,0125</b>	<b>12500</b>	
<b>Eaux lavages camions et établissements intermédiaires</b>	-	-	
mouton oral DL50	125	1250	Estimé que ces eaux peuvent contenir l'équivalent de 0,1 à 1% de tissu
Filtre 6 mm	1,25	12,5	
Séparation Boues / Effluents	0,0125	0,125	Estimé que rétention de 99% par le filtre Estimé que 99% de l'infectiosité va dans boues, 1% dans les effluents (Hinckley <i>et al.</i> , 2008)
<b>Stérilisation Méthode 1</b>	0,0000125	NA	
Adsorption dans le sol / potentialisation	<b>0,0000125</b>	<b>125</b>	Estimé 3 log d'abattement pour la tremblante Estimé absence d'effet à effet potentialisant de 3 log (Johnson <i>et al.</i> , 2007)
<b>Si absence de stérilisation des effluents</b>	<b>0,0125</b>	<b>125</b>	

NA : non appliqué

En conclusion, cette simulation suggère qu'en l'absence de traitement thermique spécifique du prion (133°C/ 20 min / 3 bars), le procédé d'épuration des eaux usées ne permet pas de garantir leur stérilité vis-à-vis des ATNC responsables notamment de la tremblante.

### **b. Cas des agents transmissibles conventionnels**

Les propositions préconisées dans le rapport de l'AFSSA de novembre 2008 s'appuyaient d'une part sur l'« identification de micro-organismes pathogènes susceptibles d'être présents dans les eaux et facilement mesurables » et leur prévalence ; et d'autre part sur la démarche d'évaluation quantitative du risque conduite par l'OMS. Cette démarche est réalisée sur la base d'un risque acceptable fixé à «  $10^{-6}$  DALY<sup>18</sup> perdue par personne et par an (pppa) pour tous les pathogènes ». Elle a permis de déterminer qu'un abattement total de 7 log permet d'atteindre cet objectif sanitaire, compte tenu des usages les plus sensibles de l'eau usée traitée (irrigation de légumes racines consommés crus). L'OMS décompose cet abattement de 7 log pour les pathogènes de la façon suivante :

- de 4 log d'abattement devant être obtenus par la filière de traitement,
- de 2 log d'abattement dû à la décroissance des pathogènes sur les végétaux irrigués<sup>19</sup>,
- d'un log d'abattement dû au nettoyage des légumes à domicile.

Différentes propositions d'indicateurs bactériens, viraux et parasitaires ont été étudiées, avec au final un choix pertinent se portant sur trois indicateurs représentatifs de l'efficacité des traitements mis en œuvre: entérocoques intestinaux, phages ARN F-spécifiques et spores de bactéries anaérobies sulfite-réductrices. Les principaux agents pathogènes en santé animale et humaine retenus à l'issue de l'analyse des dangers ne présentent pas une résistance supérieure aux indicateurs d'efficacité proposés. Leur abattement dans les eaux traitées sera donc au moins égal à celui des indicateurs. Le suivi d'*E. coli* permet de s'assurer dans le temps de l'efficacité de la filière de traitement, préalablement qualifiée.

En conclusion, pour ce qui concerne les ATC, l'AFSSA réitère les préconisations de son rapport « Réutilisation des eaux usées traitées pour l'arrosage ou l'irrigation » de 2008 (notamment en termes de valeurs d'abattement et valeurs seuils), et souligne l'importance de la détermination de l'efficacité des différents types de traitements physiques, chimiques et/ou biologiques appliqués aux effluents, associé à une stratégie globale de surveillance du bon fonctionnement de la filière de traitement.

### **c. Efficacité de l'ultrafiltration**

Les professionnels ont indiqué qu'un certain nombre d'établissements de transformation utilisent l'ultrafiltration de leurs effluents de STEP avant rejet dans l'environnement (ce qui a été confirmé par l'enquête réalisée par le MEDDM). Il convient de souligner que l'ultrafiltration ne constitue pas une méthode reconnue d'élimination des ATNC prion (circulaire DGS/5 C/DHOS/E 2 n°2001-138 du 14 mars 2001). La taille des particules infectieuses associées aux ATNC n'est pas connue avec précision et peut varier en fonction de la souche infectante (Tixador *et al.*, 2010).

Historiquement, la taille de la plus petite particule toujours infectieuse reportée lors d'expériences d'inactivation par radiations ionisantes correspondait à un dimère de PrPSc, soit environ 60 kDa (Bellinger-Kawahara *et al.*, 1988 ; Gibbs *et al.*, 1978). Il apparaît aujourd'hui que des formes solubles de la PrPSc sont néanmoins fortement infectieuses (Berardi *et al.*, 2006). Ceci explique probablement la raison pour laquelle, l'ultrafiltration, même si elle est capable potentiellement de diminuer la charge infectieuse d'un échantillon infecté de plusieurs log n'est pas totalement inactivante. Ainsi une quantité significative d'infectiosité peut persister après passage de l'échantillon par des filtres de très petite taille (15 nm), tels que classiquement employés pour la préparation de produits pharmaceutiques dérivés du plasma (Yunoki *et al.* 2008 ; 2010). Il est considéré que cette méthode permet au mieux un abattement de 4 log d'infectiosité (Yunoki *et al.*, 2010 ; You *et al.*, 2010).

<sup>18</sup> Disability adjusted life years : Le DALY est utilisé comme unité de mesure du risque, permet de tenir compte à la fois du nombre d'années perdues par suite d'un décès prématuré et du nombre d'années avec une incapacité

<sup>19</sup> Le rapport OMS ne précise pas dans quel délai ces abattements sont atteints

Par ailleurs, les membranes mises en œuvre dans les filières de traitements sont utilisées pour des durées excédant 5 ans et des défauts dans la porosité affectant leur performance peuvent apparaître avec le temps. Or, à ce jour il n'est pas possible de mettre en évidence de défauts inférieurs à 200 nm.

#### **IV. Conclusions : Estimation du risque au regard de la valorisation possible des effluents pour l'irrigation des cultures et recommandations**

---

En conclusion, l'Afssa recommande :

a) de conditionner la réutilisation de tous les effluents issus des établissements traitant des sous-produits animaux, au respect des prescriptions du rapport Afssa de 2008 sur la « Réutilisation des eaux usées traitées pour l'arrosage ou l'irrigation ». Ce rapport préconise notamment :

- au regard de la santé animale :

-- que les eaux de catégorie A<sup>20</sup> sont utilisables sur des pâturages ou terrains produisant du fourrage frais sans contrainte supplémentaire ;

-- que les eaux de catégorie B<sup>21</sup> sont utilisables sur des pâturages ou terrains produisant du fourrage frais en respectant un délai de 3 semaines (21 jours) avant la mise au champ ou récolte<sup>22</sup> ;

-- que les eaux de catégorie C<sup>23</sup> sont utilisables sur des cultures céréalières ou fourragères autres que le fourrage frais mais seulement en irrigation gravitaire ou localisée (en interdisant toute aspersion).

- au regard de la santé humaine :

-- que les eaux de catégorie A sont utilisables sur les cultures maraîchères, fruitières et légumières sans contrainte supplémentaire ;

-- que les eaux de catégorie B sont utilisables sur les cultures maraîchères, fruitières et légumières sous réserve que ces denrées soient transformées par un traitement thermique industriel adapté ;

-- que les eaux de catégorie C sont utilisables pour les arbres fruitiers mais seulement en irrigation gravitaire ou localisée (en interdisant toute aspersion).

---

<sup>20</sup> Catégorie A : matières en suspension (MES) inférieures à 15 mg/L et demande chimique en oxygène inférieure (DCO) à 60 mg/L O<sub>2</sub>, abattement démontré d'au moins 4 log sur trois indicateurs, avec un dénombrement en *E. coli* inférieur à 250 UFC/100 mL (dénombrement correspondant à la limite de qualité eaux de baignade pour *E. coli*)

<sup>21</sup> Catégorie B : MES et DCO conformes à la réglementation de rejet des eaux usées traitées pour l'exutoire de la STEP hors période d'irrigation, abattement démontré d'au moins 3 log sur trois indicateurs, avec un dénombrement en *E. coli* inférieur à 10 000 UFC/100 mL

<sup>22</sup> L'Afssa propose de modifier le rapport REUT sur ce point, en demandant une période de 3 semaines (21 jours) en cohérence avec l'arrêté du 8 janvier 1998 (boues) et les arrêtés ICPE du 12 février 2003 modifiés.

<sup>23</sup> Catégorie C : MES et DCO conformes à la réglementation de rejet des eaux usées traitées pour l'exutoire de la STEP hors période d'irrigation, avec un abattement démontré de minimum 2 log sur une combinaison de trois indicateurs, avec un dénombrement en *E. coli* inférieur à 100 000 UFC/100 mL

b) pour les effluents issus d'établissements de collecte, de stockage, de manipulation ou de traitement des sous-produits d'origine animale C1/C2 ayant été en contact direct ou indirect avec des matières à risque<sup>24</sup>, de n'utiliser pour l'irrigation des cultures destinées à l'homme ou aux animaux que les seuls effluents épurés en STEP et traités thermiquement selon le règlement européen 1774/2002 (méthode 1 : 133°C/20 min/ 3 bars).

Enfin, compte tenu de la persistance de l'infectiosité des prions dans le sol, l'Afssa souligne les risques liés aux réaffectations d'usage des terrains ayant été irrigués avec des effluents non traités thermiquement issus d'établissements réservés aux sous-produits C1-C2. Elle recommande donc de ne réaffecter ces terrains à des cultures destinées à l'alimentation des hommes ou des animaux que sur la base d'une étude au cas par cas en fonction de la nature de cette réaffectation.

**Le directeur général**

**Marc MORTUREUX**

---

<sup>24</sup> Sont compris dans ces effluents : toutes les eaux en contact avec des matières de catégories 1 ou 2 ou des surfaces souillées par ces matières.

**Annexe 1 : détails des catégories de sous-produits animaux prévus par le règlement (CE) 1774/2002**

**Sous-produit de catégorie 1**

*Les matières de catégorie 1 comprennent les sous-produits animaux correspondant aux descriptions ci-après, ou toute matière contenant de tels sous-produits:*

*a) toutes les parties du corps, y compris les peaux, des animaux suivants:*

*i) les animaux suspects d'être infectés par une EST conformément au règlement (CE) n° 999/2001 ou pour lesquels la présence d'une EST a été officiellement confirmée,*

*ii) les animaux abattus dans le cadre de mesures d'éradication des EST,*

*iii) les animaux autres que les animaux d'élevage et les animaux sauvages, tels que les animaux familiers, les animaux de zoo et les animaux de cirque,*

*iv) les animaux utilisés à des fins expérimentales, au sens de l'article 2 de la directive 86/609/CEE du Conseil du 24 novembre 1986 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à la protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques,*

*v) les animaux sauvages, dès lors qu'ils sont suspectés d'être infectés par une maladie transmissible aux êtres humains ou aux animaux;*

*b) i) les matériels à risque spécifiés, et ii) lorsque, au moment de l'élimination, les matériels à risque spécifiés n'ont pas été enlevés, les cadavres entiers d'animaux morts contenant des matériels à risque spécifiés;*

*c) les produits dérivés d'animaux auxquels ont été administrées des substances interdites aux termes de la directive 96/22/CE et les produits d'origine animale contenant des résidus de contaminants dangereux pour l'environnement et d'autres substances inscrites au groupe B, point 3), de l'annexe I, de la directive 96/23/CE du Conseil du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits et abrogeant les directives 85/358/CEE et 86/469/CEE et les décisions 89/187/CEE et 91/664/CEE, si ces résidus sont présents à des concentrations excédant les niveaux autorisés par la législation communautaire ou, à défaut, par les législations nationales;*

*d) toutes les matières d'origine animale recueillies lors du traitement des eaux résiduaires des usines de transformation de catégorie 1 et d'autres locaux où sont enlevés les matériels à risque spécifiés, notamment les déchets de dégrillage, les déchets de dessablage, les mélanges de graisses et d'huiles, les boues, ainsi que les matières provenant des égouts de ces installations, sauf si ces matières ne contiennent aucun matériel à risques spécifiés ni des parties de ce matériel;*

*e) les déchets de cuisine et de table provenant de moyens de transport opérant au niveau international, et*

*f) les mélanges de matières de catégorie 1 et de matières des catégories 2 et/ou 3, y compris toute matière destinée à être transformée dans une usine de transformation de catégorie 1.*

## **Sous-produit de catégorie 2**

*Les matières de catégorie 2 comprennent les sous-produits animaux correspondant aux descriptions visées ci-après, ou toute matière contenant de tels sous-produits:*

- a) le lisier et le contenu de l'appareil digestif;*
- b) toutes les matières d'origine animale recueillies lors du traitement des eaux résiduaires des abattoirs autres que ceux relevant de l'article 4, paragraphe 1, point d), ou des usines de transformation de catégorie 2, notamment les déchets de dégrillage, les déchets de dessablage, les mélanges de graisses et d'huiles, les boues, ainsi que les matières provenant des égouts de ces installations;*
- c) les produits d'origine animale contenant des résidus de médicaments vétérinaires et de contaminants inscrits au groupe B, points 1) et 2), de l'annexe I de la directive 96/23/CE, si ces résidus sont présents à des concentrations excédant les niveaux autorisés par la législation communautaire;*
- d) les produits d'origine animale, autres que les matières de catégorie 1, qui sont importés de pays tiers et qui, lors des contrôles prévus par la législation communautaire, ne satisfont pas aux exigences vétérinaires requises pour leur importation dans la Communauté, sauf s'ils sont renvoyés ou si leur importation est acceptée sous réserve des restrictions prévues par la législation communautaire;*
- e) les animaux ou parties d'animaux, autres que ceux visés à l'article 4, qui meurent autrement que par abattage pour la consommation humaine, y compris les animaux abattus en vue d'éradiquer une épizootie;*
- f) les mélanges de matières des catégories 2 et 3, y compris toute matière destinée à être transformée dans une usine de transformation de catégorie 2, et*
- g) les sous-produits animaux autres que les matières de catégorie 1 ou 3.*

## **Sous-produit de catégorie 3**

*Les matières de catégorie 3 comprennent les sous-produits animaux correspondant aux descriptions ci-après, ou toute matière contenant de tels sous-produits:*

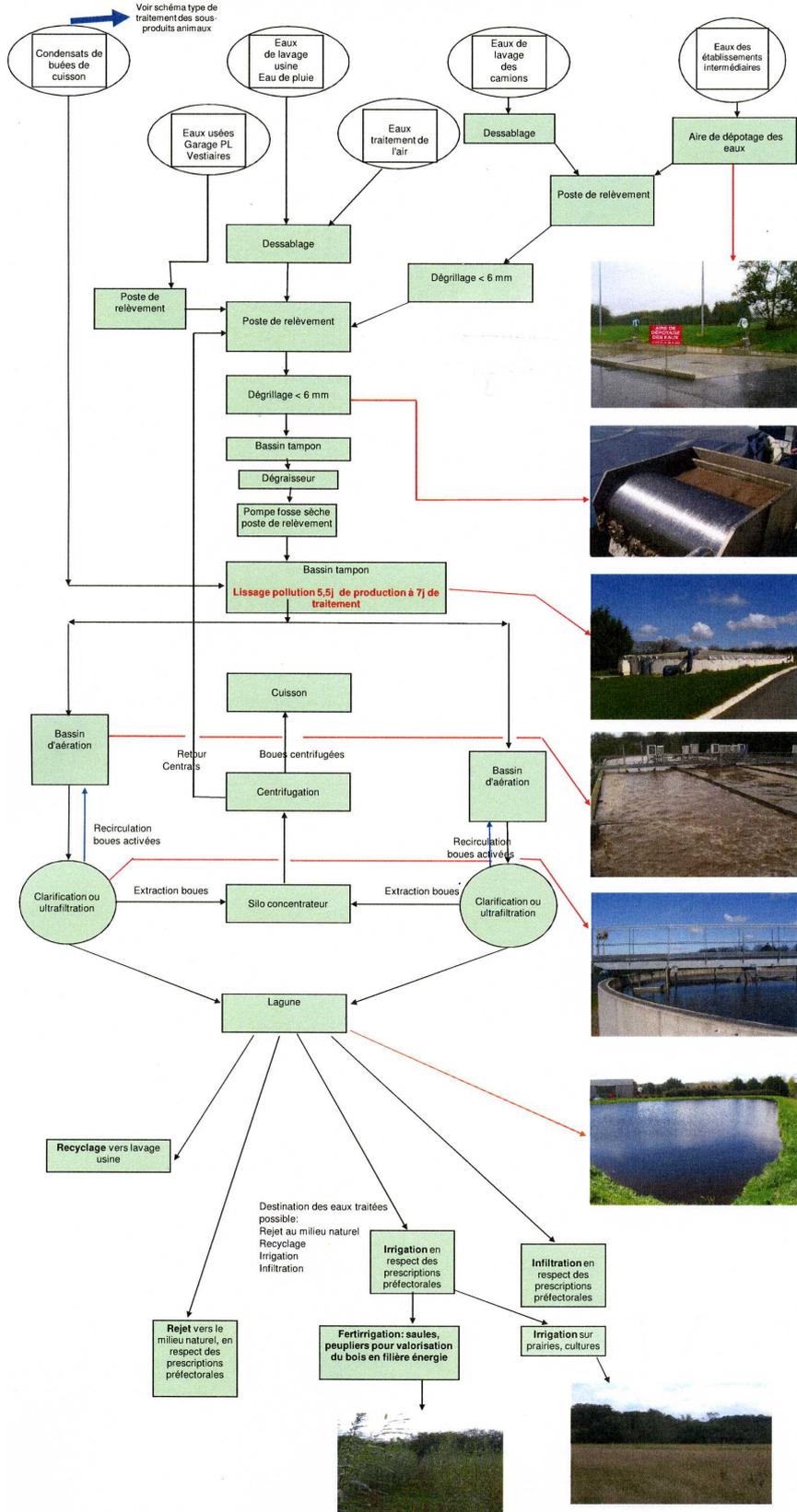
- a) les parties d'animaux abattus qui sont propres à la consommation humaine en vertu de la législation communautaire, mais ne sont pas destinées à la consommation humaine pour des raisons commerciales;*
- b) les parties d'animaux abattus qui ont été déclarées impropres à la consommation humaine, mais sont exemptes de tout signe de maladie transmissible aux êtres humains ou aux animaux et sont issues de carcasses propres à la consommation humaine en vertu de la législation communautaire;*
- c) les peaux, les sabots et les cornes, les soies de porcs et les plumes issus d'animaux mis à mort à l'abattoir après avoir été déclarés, à la suite d'une inspection ante mortem, propres à être abattus à des fins de consommation humaine conformément à la législation communautaire;*
- d) le sang issu d'animaux autres que des ruminants mis à mort à l'abattoir après avoir été déclarés, à la suite d'une inspection ante mortem, propres à être abattus à des fins de consommation humaine conformément à la législation communautaire;*
- e) les sous-produits animaux dérivés de la fabrication des produits destinés à la consommation humaine, y compris les os dégraissés et les cretons;*

- f) les anciennes denrées alimentaires d'origine animale ou contenant des produits d'origine animale, autres que les déchets de cuisine et de table, qui ne sont plus destinées à la consommation humaine pour des raisons commerciales ou en raison de défauts de fabrication ou d'emballage ou d'autres défauts n'entraînant aucun risque pour la santé humaine ou animale;
- g) le lait cru provenant d'animaux ne présentant aucun signe clinique de maladie transmissible aux êtres humains ou aux animaux par le biais de ce produit;
- h) les poissons ou autres animaux marins, à l'exception des mammifères, capturés en haute mer aux fins de la production de farines;
- i) les sous-produits frais de poissons qui proviennent d'usines fabriquant des produits à base de poisson destinés à la consommation humaine;
- j) les coquilles, sous-produits d'écloserie et sous-produits dérivés d'oeufs féchés issus d'animaux n'ayant présenté aucun signe clinique de maladie transmissible aux êtres humains ou aux animaux par le biais de ces produits;
- k) le sang, les peaux, les sabots, les plumes, la laine, les cornes, les poils et les fourrures issus d'animaux n'ayant présenté aucun signe clinique de maladie transmissible aux êtres humains ou aux animaux par le biais de ces produits, et
- l) les déchets de cuisine et de table autres que ceux visés à l'article 4, paragraphe 1, point e).

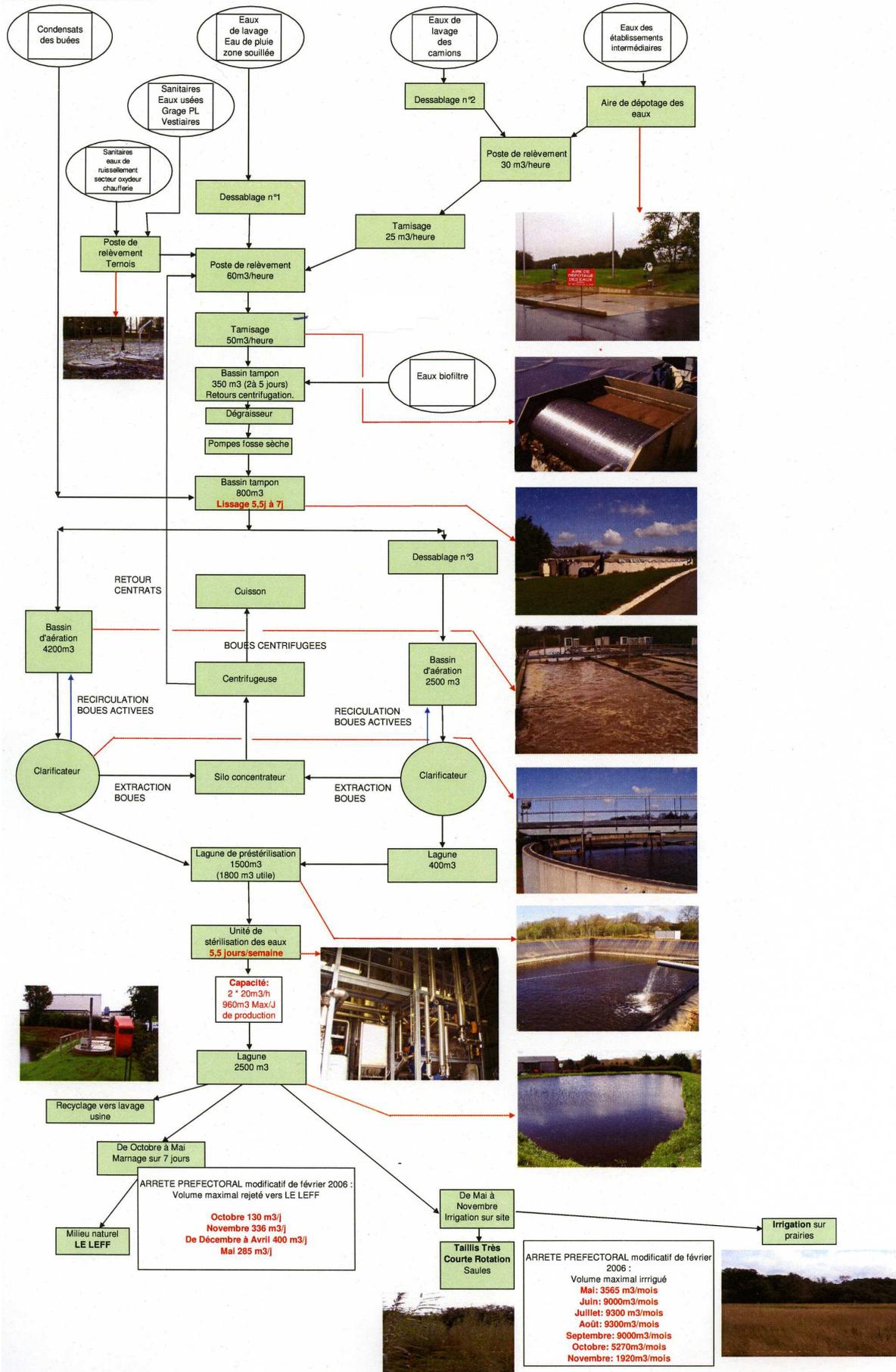
**Annexe 2 : exemples de traitement des eaux dans les établissements de transformation de sous-produits animaux (source : Sifco)**

Réunion AFSSA-SIFCO du 15-01-10 – Document préparatoire du 7 janvier 2010

**SCHEMA GENERAL  
D'UNE STATION D'EPURATION BIOLOGIQUE DE L'EAU**



EPURATION DE L'EAU janvier 2010.



## MOTS-CLES

Sous-produits animaux, réutilisation, effluents liquides, irrigation.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFSSA. 2002 Rapport sur les « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Evaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium sp.* »
- Afssa Rapport de novembre 2008 concernant la réutilisation des eaux usées traitées pour l'arrosage ou l'irrigation.
- AFSSA. Fiche *Campylobacter* spp.
- AFSSA.2008. Fiche *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC).
- AFSSA.2009. Fiche *Salmonella* spp.
- AFSSA (7 avril 2010) avis relatif au risque zoonotique des différentes souches connues d'EST chez les petits ruminants.
- AFSSA.2006b. Fiche *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*
- AFSSA.2009. Fiche *Salmonella* spp.
- Bellinger-Kawahara CG, Kempner E, Groth D, Gabizon R, Prusiner SB. Scrapie prion liposomes and rods exhibit target sizes of 55,000 Da. *Virology*. 1988 Jun;164(2):537-41
- Berardi VA, Cardone F, Valanzano A, Lu M, Pocchiari M. Preparation of soluble infectious samples from scrapie-infected brain: a new tool to study the clearance of transmissible spongiform encephalopathy agents during plasma fractionation. *Transfusion*. 2006 Apr;46(4):652-8.
- Beringue, V., L. Herzog, et al. (2008). "Transmission of atypical bovine prions to mice transgenic for human prion protein." *Emerg Infect Dis* **14**(12): 1898-901.
- Brown, P. and D. C. Gajdusek (1991). "Survival of scrapie virus after 3 years' interment." *Lancet* **337**(8736): 269-70.
- Comoy, E. E., C. Casalone, et al. (2008). "Atypical BSE (BASE) transmitted from asymptomatic aging cattle to a primate." *PLoS One* **3**(8): e3017.
- Dickinson J, Murdoch H, Dennis MJ, Hall GA, Bott R, Crabb WD, Penet C, Sutton JM, Raven ND Decontamination of prion protein (BSE301V) using a genetically engineered protease. *J Hosp Infect*. 2009 May;72(1):65-70.
- Genovesi, S., L. Leita, et al. (2007). "Direct detection of soil-bound prions." *PLoS One* **2**(10): e1069.
- Georgsson, G., S. Sigurdarson, et al. (2006). "Infectious agent of sheep scrapie may persist in the environment for at least 16 years." *J Gen Virol* **87**(Pt 12): 3737-40.
- Gibbs C J, Gajdusek D C, and Latarjet R: Unusual resistance to ionizing radiation of the viruses of Kuru, Creutzfeldt-Jakob disease, and scrapie. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1978 December; 75(12)
- Giles, K., D. V. Glidden, et al. (2008). "Resistance of bovine spongiform encephalopathy (BSE) prions to inactivation." *PLoS Pathog* **4**(11): e1000206.
- Greig JR (1940) Scrapie: Observation on the transmission of the disease by mediate contact. *Vet J* 96: 203–206
- Hinckley, G. T., C. J. Johnson, et al. (2008). "Persistence of pathogenic prion protein during simulated wastewater treatment processes." *Environ Sci Technol* **42**(14): 5254-9.
- Humphrey, T., O'Brien, S., Madsen, M. 2007. *Campylobacters as zoonotic pathogens: A food production perspective*. *Int. J. Food Microbiol.* 117, 237-257.
- Johnson, C. J., J. A. Pedersen, et al. (2007). "Oral transmissibility of prion disease is enhanced by binding to soil particles." *PLoS Pathog* **3**(7): e93.
- Johnson, C. J., K. E. Phillips, et al. (2006). "Prions adhere to soil minerals and remain infectious." *PLoS Pathog* **2**(4): e32.
- Kong, Q., M. Zheng, et al. (2008). "Evaluation of the human transmission risk of an atypical bovine spongiform encephalopathy prion strain." *J Virol* **82**(7): 3697-701.
- Langeveld, J; Groschup, MH; Buschmann, A; Becher, D; Wang, JJ; Shih, JCH, Enzymatic Degradation of PrPSc Fails to Dis-Infect Bovine BSE Brain Homogenates. Oral communication Neuroprion 2007 Edinburgh, Scotland, UK 26-28 Sept. 2007
- Lejeune J.T., Besser T.E., Hancock, D.D. 2001. Cattle water troughs as reservoirs of *Escherichia coli* O157. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 3053-3057.
- Loukiadis, E., Kérourédan, M., Beutin, L., Oswald, E., Brugère, H. 2006. Characterization of Shiga toxin gene (stx)-positive and intimin gene (eae)-positive *Escherichia coli* isolates from wastewater of slaughterhouses in France. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 3245-3251.

- Ma X, Benson CH, McKenzie D, Aiken JM, Pedersen JA (2007) Adsorption of pathogenic prion protein to quartz sand. *Environ Sci Technol* 41: 2324–2330
- Maluquer de Motes, C., M. J. Cano, et al. (2008). "Detection and survival of prion agents in aquatic environments." *Water Res* 42(10-11): 2465-72.
- Mathis A, Weber R, Deplazes P. Zoonotic potential of the microsporidia. Clin Microbiol Rev. 2005 Jul;18(3):423-45. Review
- Miller, M. W., E. S. Williams, et al. (2004). "Environmental sources of prion transmission in mule deer." *Emerg Infect Dis* 10(6): 1003-6.
- Mommeja, F. Contamination des effluents d'abattoir par des *Escherichia coli* producteurs de shiga toxines. Dissémination environnementale et conséquences en santé publique. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2004.
- Munch, B., Larsen, E.H., Aalbaek, B., 1987. Experimental studies on the survival of pathogenic and indicator bacteria in aerated and nonaerated cattle and pig slurry. *Biol. Wastes*, 22, 49-65.
- Rigou, P., H. Rezaei, et al. (2006). "Fate of prions in soil: adsorption and extraction by electroelution of recombinant ovine prion protein from montmorillonite and natural soils." *Environ Sci Technol* 40(5): 1497-503.
- Seidel, B., A. Thomzig, et al. (2007). "Scrapie Agent (Strain 263K) can transmit disease via the oral route after persistence in soil over years." *PLoS One* 2(5): e435.
- Souppart L, Sancier G, Cian A, Wawrzyniak I, Delbac F, Capron M, Dei-Cas E, Boorom K, Delhaes L, Viscogliosi E. Molecular epidemiology of human Blastocystis isolates in France. *Parasitol Res*. 2009 Aug;105(2):413-21.
- Tamgüney G, Miller MW, Wolfe LL, Sirochman TM, Glidden DV, Palmer C, Lemus A, DeArmond SJ, Prusiner SB. Asymptomatic deer excrete infectious prions in faeces. *Nature*. 2009 Sep 24;461(7263):529-32
- Taylor, D. M. (2000). "Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: A review." *Vet J* 159(1): 10-7.
- Tixador P, Herzog L, Reine F, Jaumain E, Chapuis J, Le Dur A, Laude H, Béringue V. The physical relationship between infectivity and prion protein aggregates is strain-dependent. *PLoS Pathog*. 2010 Apr 15;6(4)
- Wells, G. A., T. Konold, et al. (2007). "Bovine spongiform encephalopathy: the effect of oral exposure dose on attack rate and incubation period in cattle." *J Gen Virol* 88(Pt 4): 1363-73.
- Yoshioka, M., Y. Murayama, et al. (2007). "Assessment of prion inactivation by combined use of Bacillus-derived protease and SDS." *Biosci Biotechnol Biochem* 71(10): 2565-8.
- You B, Aubin JT, Le-Hir G, Arzel A, Laude H, Flan B. In vitro infectivity assay for prion titration for application to the evaluation of the prion removal capacity of biological products manufacturing processes. *J Virol Methods*. 2010 Mar;164(1-2):1-6.
- Yunoki M, Tanaka H, Urayama T, Hattori S, Ohtani M, Ohkubo Y, Kawabata Y, Miyatake Y, Nanjo A, Iwao E, Morita M, Wilson E, MacLean C, Ikuta K Prion removal by nanofiltration under different experimental conditions. *Biologicals*. 2008 Jan;36(1):27-36. Epub 2007 Sep 24.
- Yunoki M, Tanaka H, Urayama T, Kanai Y, Nishida A, Yoshikawa M, Ohkubo Y, Kawabata Y, Hagiwara K, Ikuta K. Infectious prion protein in the filtrate even after 15 nm filtration. *Biologicals*. 2010 Mar;38(2):311-3.