

**Programme de recherche et d'adaptation technologiques sur le traitement des  
fumiers**

**IMPACT DES SYSTEMES DE TRAITEMENT DES  
LISIERS SUR LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DU  
SOUS PRODUIT LIQUIDE**

Rapport final  
Projet no. 604016

Responsable scientifique  
Caroline Côté



INSTITUT DE RECHERCHE POUR  
L'INGENIERIE DE L'AGRICULTURE ET DE  
L'ENVIRONNEMENT



Agriculture et  
Agroalimentaire Canada

Agriculture and  
Agri-Food Canada



**VAL'Epur**

## **LISTE DES PARTICIPANTS**

Caroline Côté	Responsable scientifique Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA) 3300 rue Sicotte Saint-Hyacinthe (Québec) J2S 7B8
Nora Aktouche	IRDA (chargée de projet)
Stéphane Godbout	IRDA
Kathie Roseberry	
Mylène Généreux	
José Martinez	CEMAGREF
Anne-Marie Pourcher	
Pascal Peu	
Pierre Rousseau	
Daniel Massé	Agriculture et agroalimentaire Canada

## **PARTENAIRES DE RÉALISATION**

Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec

CEMAGREF

FPPQ (Fédération des producteurs de porcs du Québec)

CRIQ (Centre de recherche industrielle du Québec)

Envirogain inc.

Bioterre systems inc.

AAC (Agriculture et agroalimentaire Canada)

Balthazard et Cotte

Valetec

## **REMERCIEMENTS**

Cette recherche a été réalisée grâce à une aide financière accordée dans le cadre du Programme de recherche et d'adaptation technologiques sur le traitement des fumiers du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec.

## TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES PARTICIPANTS.....	2
PARTENAIRES DE RÉALISATION.....	2
REMERCIEMENTS.....	2
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	6
INTRODUCTION.....	7
1. REVUE DE LITTÉRATURE.....	8
1.1. Production porcine au Québec et en France.....	8
1.2. Traitement des lisiers.....	10
1.3. Qualité microbiologique des sous-produits de traitement des lisiers.....	11
1.3.1. Les micro-organismes indicateurs .....	11
1.3.2. Le potentiel assainissant des procédés de traitement .....	12
1.3.3. Paramètres affectant le pouvoir assainissant des procédés de traitement.....	14
1.3.4. Qualité microbiologique du sous-produit liquide issu des procédés de traitement.....	15
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	16
2.1. Procédé Biofertile-F.....	16
2.1.1. Description du procédé.....	16
2.1.2. Description du site expérimental.....	17
2.2. Procédé BIOSORmd-lisier.....	19
2.2.1. Description du procédé .....	19
2.2.2. Description du site expérimental .....	21
2.3. Procédé Bio-terre.....	23

2. 3. 1.	Description du procédé .....	23
2. 3. 2.	Description du site expérimental .....	24
2. 4.	Procédé BALCOPURE-NP.....	25
2. 4. 1.	Description du procédé .....	25
2. 4. 2.	Description du site expérimental .....	26
2. 5.	Procédé Valettec.....	27
2. 5. 1.	Description du procédé .....	27
2. 5. 2.	Description du site expérimental.....	27
2. 6.	Prélèvement des échantillons.....	28
2. 7.	Caractérisation microbiologique.....	30
2. 7. 1.	Souches de référence.....	30
2. 7. 2.	Dénombrement des salmonelles.....	31
2. 7. 3.	Dénombrement des <i>Escherichia coli</i> .....	31
2. 7. 3. 1.	Méthode par tubes multiples.....	32
2. 7. 3. 2.	Méthode en microplaques.....	32
2. 7. 3. 3.	Méthode des Pétrifilms.....	33
2. 7. 4.	Dénombrement des entérocoques.....	34
2. 7. 4. 1.	Méthode par tubes multiples.....	34
2. 7. 4. 2.	Méthode de filtration sur membrane.....	34
2. 7. 5.	Dénombrement des <i>Clostridium perfringens</i> .....	35
2. 7. 6.	Détection des ookystes de <i>Cryptosporidium</i> et des kystes de <i>Giardia</i> .....	36
2. 8.	Analyses physico-chimiques.....	36
2. 9.	Analyse statistique.....	37

3.	RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	40
3. 1.	Contexte de l'étude.....	40
3. 2.	Procédé Biofertile-F.....	40
3. 3.	Procédé BIOSORmd-lisier.....	48
3. 4.	Procédé Bioterre.....	54
3. 5.	Procédé Valettec.....	57
3. 6.	Procédé Balcopure.....	63
3. 7.	Corrélations entre les paramètres microbiologiques et physico-chimiques.....	69
4.	DISCUSSION GÉNÉRALE.....	71
5.	DIFFUSION DES RÉSULTATS.....	75
	BIBLIOGRAPHIE.....	76
	ANNEXES.....	81

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN :	Acide désoxyribonucléique
AFNOR :	Agence Française de Normalisation
AGV :	Acides gras volatils
API 20E :	Test d'identification biochimique des entérobactéries
ATCC :	American type culture collection
CEAEQ :	Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec
CH <sub>4</sub> :	Méthane
COT :	Carbone organique total
Cu :	Cuivre
DCO :	Demande chimique en oxygène
DBO <sub>5</sub> :	Demande biochimique en oxygène
EDTA :	Acide éthylènediaminetétracétique
EPA :	Environmental Protection Agency
HCl :	Acide chlorhydrique
LDA :	Laboratoire de développement et d'analyse
MES :	Matières en suspension
MST :	Matières solides totales
MUG :	4 - méthylumbelliféryl - bêta - D - glucuronide
N :	Azote
NH <sub>3</sub> :	Ammoniac
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> :	Ammonium
NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub> :	Sulfate d'ammonium
NaOH :	Hydroxyde de sodium
NPP :	Nombre le plus probable
P :	Phosphore
SDS :	dodécylsulfate de sodium (Détergent)
Tec :	Tête équivalent carcasse
TRH :	Temps de rétention hydraulique
UFC :	Unité formant une colonie
UV :	Ultra Violet
Zn :	Zinc

## INTRODUCTION

La valorisation du lisier de porc constitue un enjeu environnemental de plus en plus préoccupant, dû aux surplus des volumes de lisier générés par la production grandissante de cette industrie. Au cours des dernières années, une grande attention a été portée sur les risques physico-chimiques associés aux épandages d'engrais de ferme. Toutefois, peu d'études ont été conduites sur les risques biologiques associés à cette pratique et l'intérêt pour ce secteur de recherche est plutôt récent.

Les matières fécales des animaux peuvent en effet contenir plusieurs types de microorganismes potentiellement pathogènes pour l'homme tels que *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *E. coli* O157, *Cryptosporidium parvum* et *Giardia lamblia* (Ostling et Lindgren, 1991). La présence possible de ceux-ci dans les champs cultivés représente un risque de contamination microbiologique de l'eau et des produits destinés à la consommation humaine et animale (Nicholson *et al.*, 2002; Jack et Hepper, 1969).

L'assainissement des fumiers avant leur épandage permet de réduire le risque de contamination microbienne de l'eau et des récoltes. Les procédés de traitement des lisiers, destinés initialement à faciliter la gestion des éléments fertilisants tels que l'azote et le phosphore, peuvent avoir un impact important sur les populations de microorganismes indicateurs et pathogènes des lisiers. Toutefois, peu d'études ont été menées sur le sujet, particulièrement à l'échelle de la ferme.

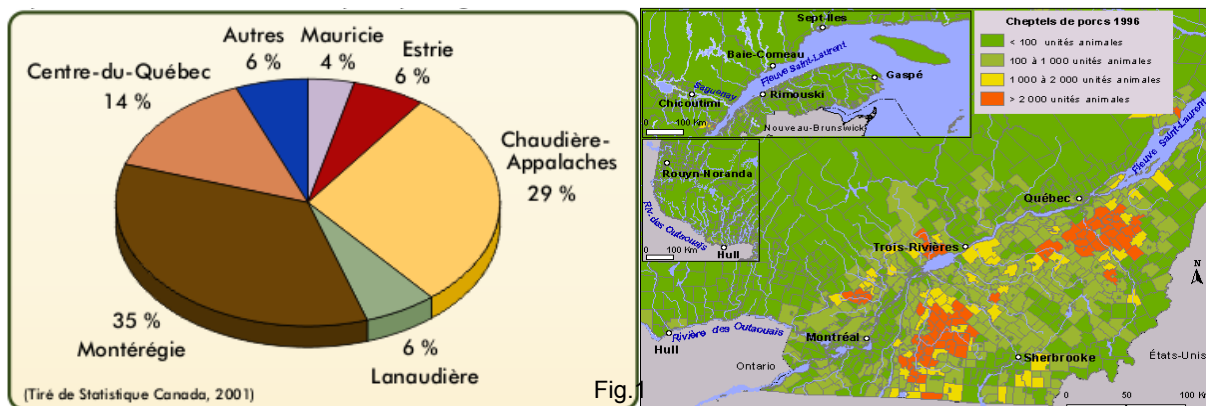
L'objectif général de ce projet est d'évaluer le pouvoir assainissant de technologies de traitement du lisier de porcs. Les objectifs spécifiques sont de 1- Préciser l'impact de technologies de traitement du lisier de porc sur la qualité microbiologique du sous-produit liquide; 2- Relier le pouvoir assainissant des technologies de traitement des lisiers aux conditions physico-chimiques rencontrées au cours du traitement; 3- Mettre au point un protocole standardisé d'évaluation de la qualité microbiologique du sous-produit liquide issu du traitement.

## 1. REVUE DE LITTÉRATURE

### 1. 1. PRODUCTION PORCINE AU QUÉBEC ET EN FRANCE

Le Québec produit annuellement environ 7 000 000 porcs. Les recettes monétaires engendrées sont de 1,13 milliard pour la production et 2,5 milliards de valeurs de livraison dans le secteur de la transformation. La valeur des exportations de cette industrie a dépassé 800 M de dollars en 2001.

Il existe 2743 entreprises porcines pour un cheptel total de 4,3 M de têtes en inventaire. Parmi les entreprises déclarant des porcs, 74 % (figure 1) se concentrent dans les régions de la Chaudière-Appalaches, de la Montérégie et du Centre-du-Québec avec 2000 porcs en moyenne en inventaire par entreprise.



**Figure 1. Répartition géographique des entreprises porcines au Québec.**

La production porcine au Québec s'est construite à travers cinq grandes étapes, soit :

- Une période de spécialisation, (1951-1975)
- Une première période de croissance, (1976-1981)
- Une période de crise, (1981-1984)
- Une période de stagnation, (1985-1994)
- Une seconde période de croissance, (1995-2002)



Dans les années 60, la production porcine était de type vivrière. Pour moderniser les systèmes de production, un effort de développement a été fait durant les années 70 et ce à différents niveaux.

- Nutrition animale,
- Insémination artificielle
- Meilleure conception des bâtiments
- Gestion environnementale

Le développement et l'industrialisation de la production porcine ont induit l'émergence de contraintes environnementales. Ces contraintes ont amené une adaptation des systèmes de production et un développement de technologies de réduction des odeurs et de traitement des lisiers.

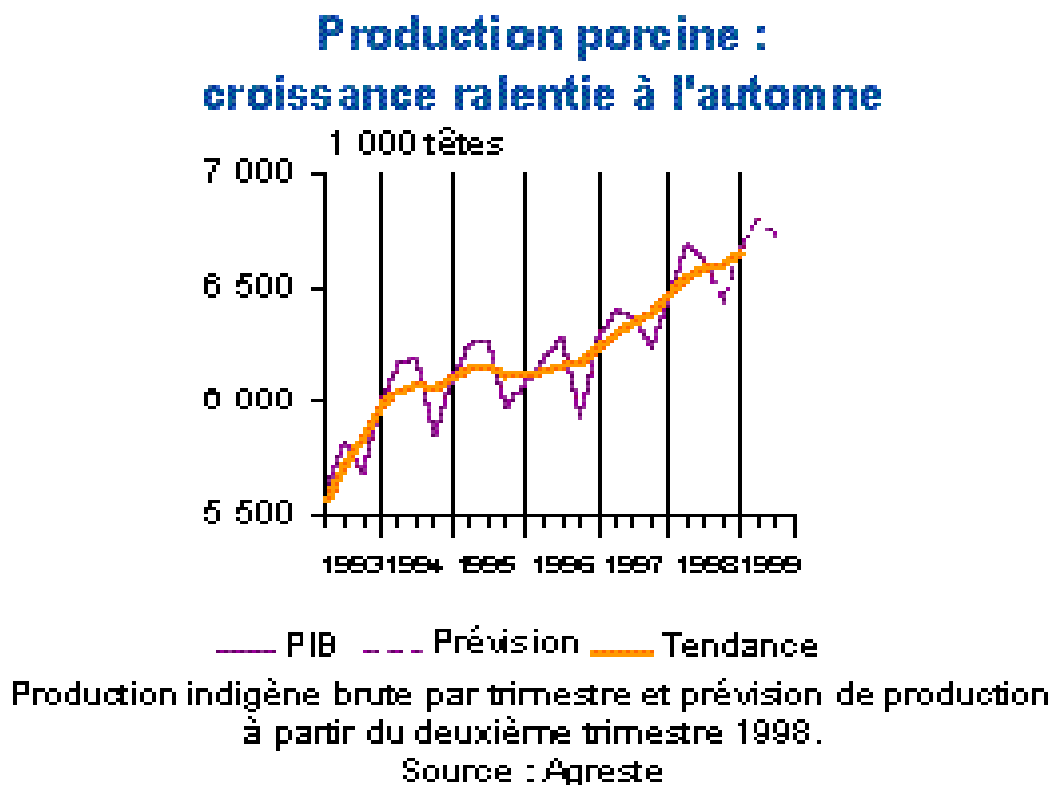
En France, le cheptel comptait en 2004 plus de 15 M de têtes dont 1,3 M de truies (837 650 en Bretagne) plaçant le pays au 4<sup>ème</sup> rang derrière l'Allemagne, l'Espagne et la Pologne.

En France, la production porcine a considérablement évoluée depuis les années 60. A cette époque, la production porcine française ne parvenait pas à satisfaire la consommation croissante amenée par la demande étrangère. Les pouvoirs publics lancent alors en 1970 le plan de rationalisation de la production porcine avec pour objectif de moderniser le système de production. Ce plan comportait:

- des aides à l'investissement permettant l'arrivée de nouveaux éleveurs,
- l'amélioration génétique avec la création de stations publiques de contrôle,
- le développement de schémas de sélection,
- une formation des éleveurs et techniciens (Teffène *et al* 1998).

La figure 2 présente l'évolution de la production porcine française de 1993 à 1999. Cette évolution s'est accompagnée d'une concentration géographique de la production. La Bretagne regroupait 30 % des effectifs en 1969 et 55 % en 2000.

L'Ouest (Bretagne, Pays de la Loire, Basse Normandie) en rassemble aujourd'hui les trois quarts.



**Figure 2. Évolution de la production porcine en France.**

## **1. 2. TRAITEMENT DU LISIER**

Le traitement du lisier permet de modifier ses caractéristiques physico-chimiques, (MST, MES, azote et phosphore), biologiques (DCO, DBO5) et microbiologiques. Les procédés peuvent être classés selon leur mode d'action (mécanique, physico-chimique, biologique et thermique). Le traitement mécanique inclut par exemple le tamisage, le pressage, la centrifugation et la filtration membranaire. La flottaison ou la décantation figurent parmi les procédés de nature physico-chimique. Le traitement biologique inclut par exemple la digestion aérobie ou anaérobie, alors que le traitement thermique peut être un chauffage.

Un procédé peut comprendre un ou une combinaison de traitements. De façon générale, il comprendra :

- un traitement primaire : séparation solide-liquide
- un traitement secondaire: digestion aérobie ou/et anaérobie (nitrification/dénitrification)
- un traitement tertiaire: champ d'épuration, traitement électrochimique, osmose.

Plusieurs procédés sont en développement et/ou en cours de commercialisation. Dans tous les cas, le traitement de lisier brut donne naissance à un ou plusieurs coproduits de consistance solide ou liquide.

### **1. 3. QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DES SOUS-PRODUITS DE TRAITEMENT DES LISIERS**

#### **1. 3. 1. Les microorganismes indicateurs**

Les microorganismes indicateurs sont utilisés pour déterminer la présence possible d'agents pathogènes d'origine fécale et pour estimer l'effet d'un traitement sur la flore fécale. L'indicateur de contamination fécale le plus couramment utilisé est les coliformes fécaux. Il est maintenant reconnu que *E. coli* est un indicateur de contamination fécale plus fiable que les coliformes fécaux (Toranzos *et al.*, 2002; Payment et Hartemann, 1998). *E. coli* a été fréquemment utilisé pour décrire le pouvoir assainissant de procédés de traitement des lisiers (Olson, 1988; Abdul et Lloyd, 1985). Les entérocoques sont également d'autres microorganismes indicateurs autrefois classés parmi les streptocoques fécaux. Dans la nouvelle nomenclature, le terme "entérocoque" se rapporte aux espèces autrefois considérées comme les streptocoques fécaux du groupe D. Les entérocoques se sont avérés d'excellents indicateurs de contamination fécale puisqu'ils sont plus résistants au traitement des eaux usées et plus persistants dans l'environnement que les coliformes (Toranzos *et*

*al.*, 2002; Cabelli *et al.*, 1982). De ce fait, ils sont un meilleur indicateur de la survie de plusieurs types de microorganismes pathogènes résistants.

### **1. 3. 2. Le potentiel assainissant des procédés de traitement**

Une étude récente a permis de préciser la distribution de microorganismes pathogènes après une séparation mécanique du lisier de porcs (Watabe *et al.*, 2003). La prévalence de *Salmonella* et *Campylobacter* fut supérieure dans la fraction liquide du lisier séparé, comparativement au lisier brut et à sa fraction solide. Les auteurs ont proposé des mesures de contrôle des microorganismes pathogènes telles que l'aération afin de réduire la charge microbienne de la phase liquide.

Il a été démontré que les populations de microorganismes indicateurs et pathogènes diminuent au cours de l'entreposage du lisier. Selon Jones *et al.* (1977), la population de *Salmonella* dans le lisier de bovins est passée de  $10^6$  à des niveaux non-détectables après 74 jours à  $10^{\circ}\text{C}$  (sans apport de lisier frais). Selon Munch *et al.* (1987), une décroissance exponentielle des bactéries indicatrices (*E. coli* et streptocoques fécaux) ainsi que des microorganismes pathogènes tels que *Salmonella* et *Yersinia enterocolitica* est observée au cours de l'entreposage. La persistance de ces microorganismes fut supérieure à basse température ( $6\text{-}9^{\circ}\text{C}$ ) comparativement à haute température ( $18\text{-}20^{\circ}\text{C}$ ). La décroissance exponentielle de *E. coli* a été observée dans le lisier de porcs entreposé à l'échelle de la ferme (Côté et Quessy, 2006). Dans une étude menée en laboratoire, la survie de *Salmonella* dans le lisier de bovins s'est montrée affectée par la quantité initiale de microorganismes, la température, le contenu en solides et la souche de *Salmonella* présente (Jones *et al.*, 1977). La persistance de cette bactérie fut supérieure lorsque le contenu en solides excédait 5% et que la température était inférieure à  $10^{\circ}\text{C}$ . Par ailleurs, une relation fut observée entre la diminution du pH et la disparition de *Salmonella*. Selon les auteurs, l'impact du pH sur *Salmonella* ne serait pas direct, mais traduit plutôt la production de composés acides toxiques pour *Salmonella* produits durant le stockage.

De façon générale, comparativement à l'entreposage seul, le traitement biologique des lisiers (digestion aérobie ou anaérobie) entraînera une disparition plus rapide des microorganismes indicateurs et pathogènes. Ainsi, la survie des microorganismes indicateurs et pathogènes fut réduite par l'aération comparativement au simple entreposage, tant à basse (6-9°C) qu'à haute température (18-20°C) (Munch *et al.*, 1987). La digestion aérobie s'est aussi avérée efficace pour détruire *Salmonella* dans le lisier de porcs et de bovins, tant à l'échelle du laboratoire qu'à l'échelle de la ferme (Heinonen-Tanski *et al.*, 1998). L'aération a permis de réduire les populations initiales de *Salmonella* de 99% ou plus en 2 à 5 semaines. Selon Ginnivan *et al.* (1981), la digestion aérobie thermophile du lisier de porcs a permis de faire passer les populations de *Salmonella* de  $10^6$ /mL à des niveaux non-détectables en 4 heures.

La digestion anaérobie permet aussi, comparativement au simple entreposage, de réduire la persistance des microorganismes indicateurs et pathogènes. Kearny *et al.* (1993) ont précisé le délai requis pour qu'une réduction de 90% des populations de microorganismes ( $T_{90}$ ) du lisier de bovins soit observée et ce, en conditions expérimentales. Au cours de l'entreposage, le  $T_{90}$  de *E. coli*, *Salmonella* et *Yersinia enterocolitica* fut respectivement de plus de 29 jours, 21,3 et 20,8 jours à une température de 4°C, alors qu'à 17°C, il fut de plus de 29 jours, 17,5 et 12,8 jours pour ces mêmes bactéries respectivement. Dans la même étude, le  $T_{90}$  fut réduit à 0,8, 0,9 et 0,7 jours pour *E. coli*, *Salmonella* et *Yersinia enterocolitica* respectivement suite à une digestion anaérobie mésophile (35°C) séquentielle. En alimentation semi-continue du bioréacteur, la persistance de *E. coli*, *Salmonella* et *Yersinia enterocolitica* était supérieure, le  $T_{90}$  atteignant 1,5, 1,1 et 2,5 jours respectivement. Selon une autre étude menée par les mêmes auteurs, la persistance des microorganismes était supérieure à l'échelle de la ferme. Le  $T_{90}$  de *E. coli*, *Salmonella* et *Yersinia enterocolitica* s'élevait alors à 76,9, 34,5 et 18,2 jours respectivement.

### 1. 3. 3. Paramètres affectant le pouvoir assainissant des procédés de traitement

Plusieurs paramètres affectent le pouvoir assainissant des technologies de traitement des lisiers. Le temps de rétention, la température, le contenu en solides ainsi que la production d'acides gras volatils sont parmi les plus importants. Une augmentation du temps de rétention permettra d'obtenir des niveaux supérieurs d'assainissement (Olson, 1988). De la même manière, une augmentation de la température a un effet assainissant supérieur au cours de l'entreposage (Munch *et al.*, 1987), de la digestion aérobie (Munch *et al.*, 1987) et de la digestion anaérobie (Kumar *et al.*, 1999; Olson et Larsen, 1987). Il a aussi été démontré que le passage du contenu en solides de 9 à 15% entraînait une augmentation de la persistance de *Salmonella* (Kumar *et al.*, 1999). Au cours de la digestion anaérobie du lisier, la diminution des populations de *Salmonella* a montré une corrélation avec la concentration en acides gras volatils et la diminution du pH (Tappouni, 1984). Il est aussi important de considérer les conditions expérimentales dans l'analyse de la littérature. À titre d'exemple, la persistance de microorganismes indicateurs soumis à une digestion anaérobie mésophile s'est montrée supérieure dans une étude menée à l'échelle de la ferme, comparativement aux essais menés en laboratoire où des souches de microorganismes avaient été artificiellement ajoutées. Par contre, dans une autre étude sur la digestion aérobie, aucune différence n'a été constatée entre l'échelle du laboratoire et de la ferme (Heinonen-Tanski *et al.*, 1998). L'efficacité des procédés de traitement diffère aussi en fonction du type de microorganisme. En digestion anaérobie mésophile, le  $T_{90}$  de *Streptococcus faecalis* (membre des entérocoques dans la nouvelle nomenclature) fut de 15 jours, comparativement à 10 jours pour *E. coli* et *Salmonella* (Kumar *et al.*, 1999). Par ailleurs, alors que le  $T_{90}$  de *E. coli*, *Salmonella* et *Streptococcus faecalis* était respectivement de 0,4, 0,7 et 1 heure au cours d'une digestion anaérobie à 53 °C, les spores de *Clostridium perfringens* ne furent pas affectées.

### **1. 3. 4. Qualité microbiologique du sous-produit liquide issu des procédés de traitement**

Bien que le traitement des lisiers permette généralement une réduction significative des microorganismes indicateurs et pathogènes, la qualité de l'effluent liquide restreint parfois sa disposition. Selon Bicudo et Svoboda (1995), une digestion aérobie réalisée à l'échelle de la ferme a permis de réduire de 99 à 99,9 % les populations de coliformes fécaux et de streptocoques fécaux (2 - 3 unités logarithmiques) (Bicudo et Svoboda, 1995). Toutefois, le contenu microbiologique de l'effluent final était encore relativement élevé, se situant à  $10^6$  UFC/100 mL de coliformes fécaux et  $10^7$  UFC/100mL de streptocoques fécaux. Les auteurs ont donc conclu que l'effluent ne possédait pas la qualité microbiologique requise pour être utilisé pour l'irrigation des cultures, mais que l'impact environnemental de cet effluent était 10 à 20 fois moindre que le lisier non-traité. Au Québec, les critères de qualité microbiologique de l'eau en ce qui a trait aux coliformes fécaux sont de 1000 UFC/100mL pour la prévention de la contamination (s'applique aux endroits où il y a un traitement complet de l'eau, i.e. floculation, filtration et désinfection); 200 UFC/100 mL pour les activités de contact primaire telles que la baignade et la planche à voile; et enfin 1000 UFC/100mL pour les activités de contact secondaire telles que la pêche et le canotage (Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2006) (voir annexe 7). Actuellement, au Québec, la norme sur les entérocoques, de 35 UFC/100 mL, ne s'applique qu'aux eaux salées. La possibilité de rejet au cours d'eau de l'effluent liquide du lisier traité dépend de sa qualité microbiologique, ainsi que du débit de l'effluent et du milieu récepteur. Selon le conseil canadien des ministres de l'environnement, le contenu en coliformes fécaux de l'eau d'irrigation ne devrait pas dépasser 100 UFC/100 mL.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

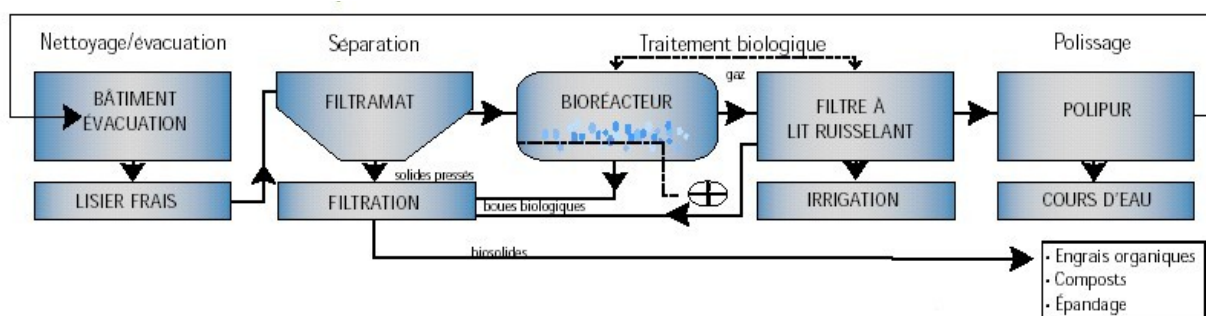
Cinq technologies de traitement des lisiers ont été évaluées dans le cadre de cette étude. Il s'agit de Biofertile-F, BIOSORmd-lisier, Bio-terre, Balcopure-NP(1) et Valettec.

### 2. 1. Procédé Biofertile-F

#### 2. 1. 1. Description du procédé

C'est un procédé biologique de type aérobie. Cette technologie vise le traitement complet de la partie liquide du lisier, soit le rejet au cours d'eau.

Le processus consiste à extraire la partie solide avec un maximum de composés azotés organiques, de phosphore et de potassium et de réduire les rejets gazeux ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{NO}_x$ ). La nitrification-dénitrification est réalisée dans le bioréacteur par digestion aérobie. Il en résulte un effluent épuré et des émissions gazeuses traitées par passage au filtre à lit ruisselant avant leur rejet dans l'atmosphère. La partie solide est valorisée par épandage ou exportée pour fabrication d'engrais organique ou compostage (figure 3).



**Figure 3. Schéma d'écoulement du procédé Solution Biofertile-F.**

Le procédé est commercialisé et a fait l'objet d'une vitrine technologique au centre de production porcine de Saint-Anselme où il traitait l'équivalent de  $2,44 \text{ m}^3 / \text{j}$  de lisier. Le système fonctionne par pilotage automatisé avec suivi à distance par télémétrie. À ce jour, deux stations commerciales sont implantées en Montérégie, la première



traitant  $80 \text{ m}^3 / \text{j}$  de lisier et la seconde  $50 \text{ m}^3 / \text{j}$ . Le site expérimental pour cette étude était celui de la ferme porcine de St-Anselme décrit ci-dessous.

## **2. 1. 2. Description du site expérimental**

La ferme école de production porcine se situe à Saint-Anselme dans la région Chaudière-Appalaches. Inauguré en décembre 2000, le Centre d'excellence en production porcine (CEPP) est une ferme-école dont la mission est de favoriser la formation d'une main-d'œuvre de pointe. Cette ferme-école est composée d'une maternité et d'une pouponnière pouvant abriter jusqu'à 110 truies, 2 verrats et 300 porcelets. La configuration du CEPP permet aussi les essais de diverses techniques de production tout en favorisant le transfert technologique.

Le procédé de traitement fonctionne en continu et comprend les étapes suivantes :

- Homogénéisation du lisier dans la pré-fosse souterraine
- Séparation de phases par micro-tamissage et par presse à vis, en série.
- Digestion aérobie du filtrat de séparation dans un réacteur (traitement de l'azote par nitrification et dénitrification) suivie d'une première décantation.
- Traitement du surnageant du premier décanteur par filtre à lit ruisselant et seconde décantation.
- Polissage du surnageant du second décanteur par procédé électrochimique: Polipur.
- Déshydratation des boues produites par les différentes étapes du traitement (réacteur, filtre, Polipur). Il est possible de presser les boues avec les refus de séparation primaire, permettant ainsi une capture optimale des matières en suspension ainsi que du phosphore des boues. Le filtrat de ce pressage est retourné vers le réacteur ou filtre à lit ruisselant. La partie solide est transformée en fertilisant solide.
- Captage et traitement des gaz du réacteur et de la salle de traitement par le filtre à lit ruisselant

Une partie du sous-produit liquide est utilisée pour l'irrigation d'une parcelle engazonnée juxtaposée au bâtiment d'élevage. L'autre partie est utilisée pour rincer les dalots.

Un schéma d'écoulement du procédé Solution Biofertile-F est présenté dans l'annexe 1, incluant l'identification des points d'échantillonnage ciblés dans le cadre de cette étude.

## **2. 2. Procédé BIOSORmd-lisier**

### **2. 2. 1. Description du procédé**

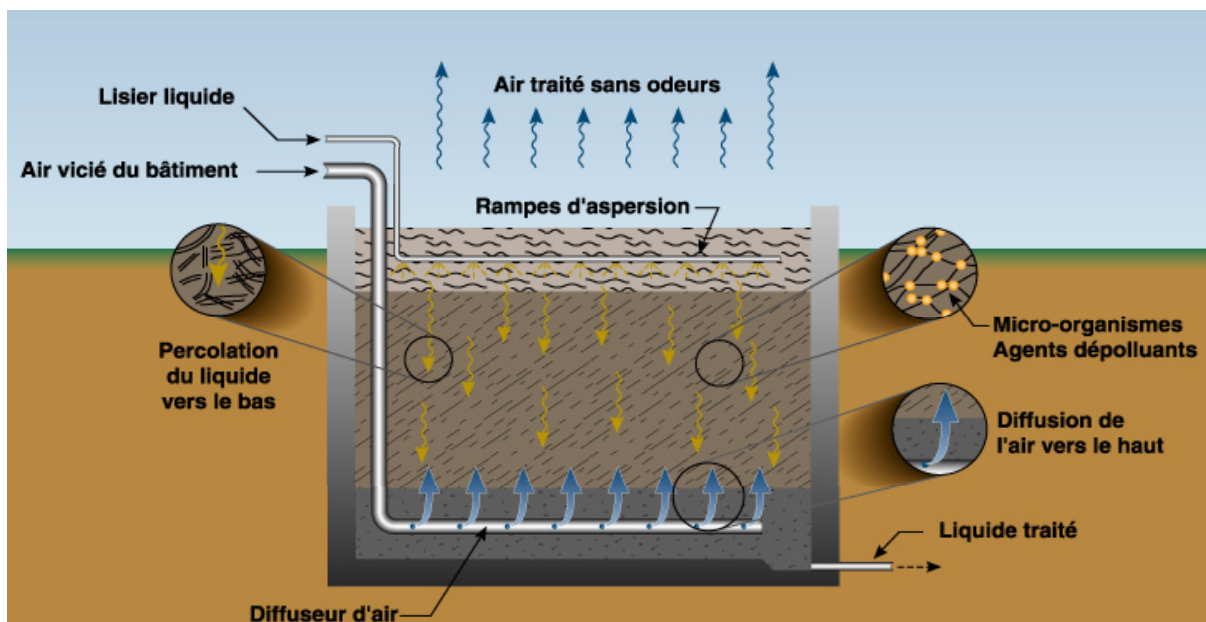
Le procédé BIOSORmd-lisier a été développé par le Centre de Recherche Industrielle du Québec (CRIQ) et il est commercialisé par H<sub>2</sub>O innovation inc. C'est un procédé biologique de type aérobie. Il vise le rejet au milieu naturel de la fraction liquide, le traitement d'une portion de l'air vicié rejeté par le bâtiment de production et l'exportation de la fraction solide vers le compostage ou le séchage suivi de la granulation. BIOSORmd-lisier est implanté dans 5 exploitations porcines, dont 3 au Québec et 2 en France.

Le traitement comprend:

- Un traitement primaire qui peut être la séparation sous les lattes, la décantation naturelle ou la flottation. Le choix du traitement primaire dépend de la charge du lisier car les biofiltres sont sensibles à la concentration des matières en suspension en raison du colmatage qu'elles entraînent. Il dépend aussi de l'objectif visé du traitement, notamment sur l'enlèvement souhaité du phosphore.
- Un traitement secondaire et tertiaire réalisé par un biofiltre primaire et un biofiltre de polissage. Le principe des biofiltres consiste à faire passer le lisier et le gaz à travers le filtre organique. Il s'agit d'un procédé de filtration lente basé sur l'utilisation d'un biofilm fixé sur un support organique (copeaux de bois, tourbe...) soumis à un débit d'air vicié provenant du bâtiment à sens opposé à l'écoulement du liquide. Les biofiltres, grâce à leur configuration, permettent de traiter l'azote par le processus de nitrification et dénitrification simultanées. Dans des conditions idéales, l'azote serait libéré sous la forme élémentaire (N<sub>2</sub>).

Le lit organique peut agir de deux façons: comme résine naturelle ayant la capacité de fixer différents types de polluants et/ou comme substrat pour des micro-organismes capables de dégrader les substances retenues. Par ailleurs, les constituants du support organique, particulièrement les lignines et les acides

organiques sont composés de différents groupes fonctionnels polaires: alcool, phénols, aldéhydes, cétones, acides et éthers. Ce caractère de polarité permet une bonne capacité d'adsorption des molécules organiques et des métaux de transition. La propriété d'adsorption peut être combinée à la structure poreuse, induisant une adsorption physique. L'apport en oxygène aux biofiltres est réalisé à partir de l'air de ventilation des bâtiments.



**Figure 4. Schéma du procédé BIOSORmd-lisier**

Le procédé génère deux coproduits dans sa configuration de traitement complet du lisier:

- Boue obtenue du traitement primaire
- Substrat des biofiltres

La séparation sous les lattes, la flottation et la décantation permettent un enlèvement important de matières en suspension et du phosphore. Le substrat organique utilisé dans les biofilms est efficace sur une période de 4 à 5 ans et doit alors être remplacé. Le volume du substrat dont le producteur doit disposer correspond à 4% du volume de lisier brut traité (4m<sup>3</sup> de substrat traite 100 m<sup>3</sup> de lisier brut). Le changement du

substrat est requis en partie par une perte de sa structure (réduction du potentiel d'aération) et par sa saturation.

Dans l'objectif de démontrer l'efficacité du procédé BIOSORmd-lisier lors du traitement du lisier de porc et de l'air vicié du bâtiment de production, le procédé est appliqué à grande échelle sur le site d'élevage ViAPORC.

## **2. 2 . 2. Description du site expérimental**

L'entreprise VIAPORC inc. se situe à Saint-Isidore dans la Beauce. Les bâtiments reliés au système de traitement sont un engraissement de 1700 porcs/emplacement en engraissement et 5400 porcelets/emplacement en pouponnière.

Le procédé fonctionne en continu. Le lisier est entreposé dans des fosses situées sous les bâtiments d'élevage et est dirigé par pompage vers une fosse de 1300m<sup>3</sup>.

Par la suite, le lisier est soumis à:

- Un prétraitement de séparation solide-liquide par flottation (traitement primaire), dont l'efficacité repose sur la réaction induite par un faible ajout d'additifs chimiques (polymères floculants, coagulants).
- Une séparation solide-liquide est effectuée par raclage. La fraction solide est exportée vers un centre de compostage.
- Une biofiltration primaire. Le biofiltre, de 480 m<sup>3</sup> de capacité, est constitué d'une cuve en béton armé remplie d'un mélange organique sur lequel la phase liquide est aspergée.
- L'air des porcheries est injecté dans les biofiltres pour une désodorisation de celui-ci et pour aérer le substrat.
- Un second biofiltre complète le traitement du liquide (polissage).
- L'effluent épuré est injecté dans un champ d'épuration qui complète le traitement pour une disposition finale en milieu naturel.

Une représentation graphique des points d'échantillonnage ciblés dans le cadre de cette étude est présentée dans l'annexe 2.

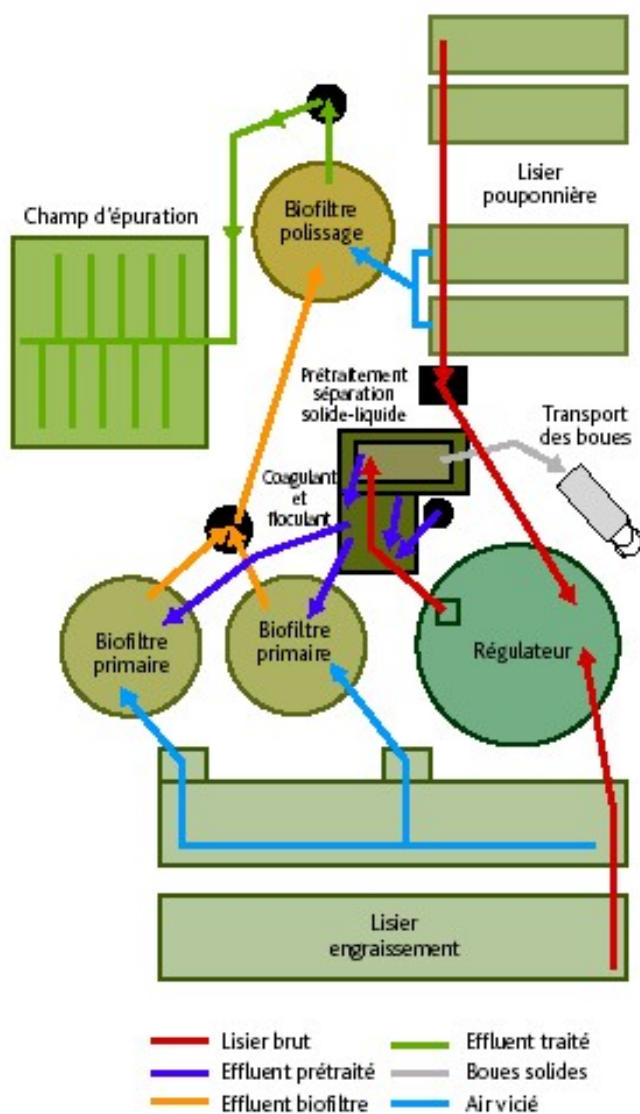


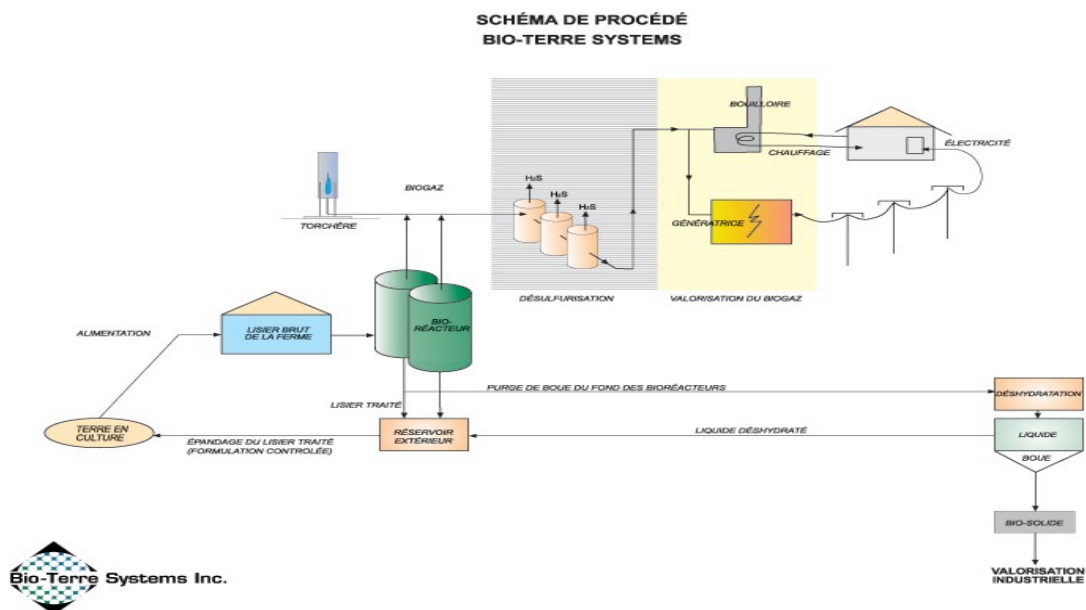
Figure 5. Schéma d'écoulement du procédé BIOSORmd-lisier.

## 2. 3. Procédé Bio-Terre

### 2. 3. 1. Description du procédé

Le procédé Bio-Terre a été mis au point par des chercheurs d'Agriculture et Agroalimentaire Canada et est actuellement développé par Bio-Terre Systems inc. Le procédé est biologique de type anaérobie. Il vise principalement la stabilisation du lisier, la réduction de sa charge organique, l'augmentation de la biodisponibilité de ses éléments fertilisants ainsi que sa désodorisation et l'élimination des agents pathogènes. Étant de type anaérobie, ce procédé génère un biogaz qui peut être récupéré sous une forme thermique ou électrique.

Contrairement aux procédés anaérobies plus classiques, opérant à une température de 30 à 35°C (mésophile), ce procédé recourt à des microorganismes spécifiques pour être efficace à basse température (10 à 25°C) (psychrophile).



**Figure 6. Schéma d'écoulement du procédé Bio-terre.**

La digestion anaérobie permet une minéralisation des éléments azotés et du phosphore et une réduction de la charge organique. Les boues extraites peuvent

éventuellement être déshydratées puis exportées. Dans leur forme actuelle, les réacteurs (2 ou plus, selon la taille de l'entreprise) sont opérés de façon séquentielle.

Le procédé Bio-Terre génère trois coproduits: un biogaz, un lisier traité et des boues biologiques. Le biogaz est composé essentiellement de méthane ( $\text{CH}_4$ ) et de gaz carbonique ( $\text{CO}_2$ ). La quantité produite est fonction principalement de la charge organique du lisier, et donc, de sa composition initiale. L'énergie thermique développée par la combustion du biogaz peut être utilisée directement à la ferme pour le chauffage (bâtiment, eau, etc.) ou, pour des unités de taille plus importante, elle peut être partiellement convertie en énergie électrique.

## **2. 3. 2. Description du site expérimental**

Une Vitrine technologique du procédé BIO-TERRE est en place à la ferme Peloquin localisée à St Edwidge de Clifton. L'élevage est de type maternité-engraissement et produit plus de 4000 porcs par an.

L'entreprise Peloquin est équipée de deux réacteurs qui fonctionnent de façon séquentielle. Le cycle de traitement dure 14 jours et fonctionne comme suit:

- Chargement du bioréacteur à partir de la pré-fosse (lisier maternité, engraissement)
- Réaction, sans chargement supplémentaire ni ajout de produit,
- Décantation naturelle du lisier lorsque la dégradation est suffisamment avancée;
- Vidange partielle et entreposage du surnageant après décantation: les boues décantées sont conservées pour démarrer les réactions pour le cycle suivant,
- Vidange périodique des boues accumulées au fond des réacteurs (1 ou 2 fois par année),
- Récupération du biogaz produits au cours de toute la durée du cycle.

NB: La charge du lisier en composés organiques est mesurée en terme de demande chimique en oxygène (DCO). La charge en DCO des lisiers des sections maternité et



engraissement permet de définir les quantités de lisier à alimenter pour maintenir un taux de chargement constant des bioréacteurs.

Une représentation graphique des points d'échantillonnage ciblés dans le cadre de cette étude pour la technologie Bio-terre est présentée dans l'annexe 3.

## **2. 4. Procédé BALCOPURE-NP**

### **2. 4. 1. Description du procédé**

Le procédé BALCOPURE a été mis au point par la société BALTHAZARD et COTTE et validée par l'agence de l'eau en 2001.

La technologie BALCOPURE-NP est de type physico-chimique. Deux versions sont proposées :

- Fixe
- Semi-mobile (transportée sur semi)

Le procédé consiste en une double centrifugation de phases du lisier et à l'addition d'un réactif basique (chaux éteinte) qui permettent l'extraction du phosphore total et l'azote total.

L'extraction d'azote de la phase liquide démarre dès l'ajout du réactif. Le temps d'extraction est réglé suivant les caractéristiques de la phase liquide du lisier brut et le pourcentage d'abattement souhaité. Un catalyseur (huile de soja) est ajouté pour réduire la mousse.

L'azote extrait est évacué dans une tour de lavage à l'aide d'un extracteur. Un réservoir rempli d'eau se situe au pied de la tour. Le circuit d'eau est mis en service avec l'ajout d'acide sulfurique. Ce mélange lave les gaz en continu et permet de neutraliser l'azote ammoniacal sous forme de sulfate d'ammonium  $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$ . Lorsque la concentration souhaitée est atteinte, le sulfate est évacué vers un stockage et le plein d'eau est refait (F.Béline et al/ 2003)

La capacité de traitement du procédé BALCOPURE varie en fonction du taux d'abattement retenu (30 m<sup>3</sup>/j pour 65 % d'abattement)

#### **2. 4. 2. Description du site expérimental**

L'exploitation HOUZE se situe à Quesmin dans les Côtes d'Armor en Bretagne. Elle s'étend sur 40 ha dont 30 ha sont cultivés (blé et maïs). L'élevage est de type naisseur-finiisseur et produit 4000 porcs/an, une production qui génère 4100 m<sup>3</sup>/an de lisier. L'exploitation située dans une zone soumise au moratoire limitant la quantité de lisier à épandre à 400 m<sup>3</sup>/an s'est vue contrainte de s'équiper d'un procédé de traitement de lisier.

Depuis 1998, La société Balthazar expérimente des procédés de traitement de lisier au niveau de l'exploitation. Le procédé BALCOPURE a été évalué et agréé pour son efficacité d'extraction d'azote et de phosphore et est utilisé par le producteur depuis 2002.

Ce procédé fonctionne par cycles successifs. Le lisier provenant des bâtiments d'élevage est stocké dans une fosse rectangulaire de 300 m<sup>3</sup>. La forme de la fosse ne permet une homogénéisation optimale du lisier avant son traitement. Le lisier alimentant le procédé de traitement est donc hétérogène. Un volume de 2 à 4 m<sup>3</sup> /h est centrifugé à 4000 tr/mn (centrifugeuse de marque GUINARD). La partie solide est récupérée dans une fosse située au-dessous de la centrifugeuse et la partie liquide est envoyée vers la cuve de stripping.

La phase liquide issue de la centrifugeuse est transférée dans la cuve (10 m<sup>3</sup>) dite de "stripping". Le réactif basique (la chaux) préalablement mélangé à l'eau est ajouté. L'ensemble est mis sous agitation et à l'aide d'une pompe immergée, le composite circule dans une hotte qui se situe au-dessus de la cuve stripping afin d'en extraire l'azote ammoniacal sous forme gazeuse. Ce traitement dure 10 heures. Le gaz est évacué pour une épuration et la phase liquide est renvoyée vers la cuve contenant la

phase solide issue de la centrifugeuse. Une deuxième centrifugation est appliquée au substrat obtenu pour donner deux sous produits. La phase liquide est évacuée vers la fosse aérienne et la phase solide est envoyée pour le compostage.

Une représentation graphique des points d'échantillonnage ciblés dans le cadre de cette étude pour la technologie Balcopure est présentée dans l'annexe 4.

## **2. 5. Procédé Valettec**

### **2. 5. 1. Description du procédé**

Le procédé a été développé par la société Valettec pour le traitement de l'azote. De type biologique, le procédé Valettec est le plus couramment utilisé en Bretagne (250 stations). Dans le cadre de ce projet, le procédé installé à EARL Bel Orient a été évalué.

### **2. 5. 2. Description du site expérimental**

L'exploitation se situe à Meslin dans les Côtes d'Armor en Bretagne. Situé dans une ZES (zone d'excédent structural), le traitement du lisier de l'exploitation a débuté en 1998 afin de minimiser les rejets d'azote. Il fut le premier modèle construit de la technologie Valettec. Une optimisation du procédé est continuellement apportée.

L'élevage est de type naisseur-finiisseur et se compose de 350 truies. L'exploitation produit 5800 porcs charcutiers par an.

Le procédé fonctionne par cycle de 3 heures. L'unité de traitement est munie d'une fosse d'homogénéisation du lisier brut de 300 m<sup>3</sup> muni d'un agitateur de 7,5 kWh. Le lisier brut (2 m<sup>3</sup>/cycle) est pompé toutes les 3h vers une cuve de 1 m<sup>3</sup>. L'agitation du lisier est effectuée seulement avant l'alimentation du procédé de traitement, dans le but de réduire la génération d'odeurs et d'économiser l'énergie.

Le séparateur, de marque Guinaretto, est une centrifugeuse qui tourne à une vitesse 5000 trs/mn permettant de séparer la phase liquide de la phase solide. Une pompe doseuse à piston assure le passage d'un débit stable de 2 m<sup>3</sup>/h dans la centrifugeuse. L'alimentation est faite de manière discontinue. La phase solide est stockée sous hangar alors que la phase liquide s'écoule par gravité dans le réacteur de traitement.

Le réacteur de volume utile de 680 m<sup>3</sup> est composé de deux réservoirs cylindriques fusionnés et de deux aérateurs de surface de 18,5 kWh chacun (voir annexe 5). Le temps de rétention hydraulique (TRH) est de 30 jours. Un cycle d'aérobie (une aération de surface pendant 3h) et d'anoxie (6h) est appliqué. Une consigne liée au potentiel redox (231 mV) assure le démarrage d'un second aérateur en cas d'aération insuffisante. Le traitement génère des quantités importantes de CO<sub>2</sub> et une faible quantité de N<sub>2</sub>O.

À la sortie du réacteur, le liquide est dirigé vers un décanteur (1000 m<sup>3</sup>), dans lequel les boues s'accumulent. Les boues sont purgées une fois par an, alors que le surnageant est envoyé vers un bassin de lagunage (4000 m<sup>3</sup>).

Une représentation graphique des points d'échantillonnage ciblés dans le cadre de cette étude pour la technologie Valettec est présentée dans l'annexe 5.

## **2. 6. Prélèvement des échantillons**

Au Québec, l'échantillonnage s'est échelonné entre le 7 septembre 2004 et le 2 mai 2005 et en France entre 15 juin 2005 et le 8 novembre 2005. Les points de prélèvement ont été déterminés de façon à évaluer l'effet de chaque phase de traitement et sont présentés au tableau 1.

**Tableau 1. Échantillons prélevés par type de traitement de lisier**

Traitement	Substrats
BIOFERTILE-F	Lisier brut
	Filtramat: Effluent de la séparation
	Effluent après le bioréacteur
	Effluent après le polissage
BIOSORmd-lisier	Lisier brut
	Effluent après coagulation floculation
	Effluent après les biofiltres
	Effluent après le polissage
BIO-TERRE	Lisier brut de maternité
	Lisier brut d'engraissement
	Effluent après le bioréacteur
BALCOPURE-NP(1)	Lisier brut (fosse souterraine)
	Filtrat après centrifugation
	Effluent après stripping
	Effluent après 2 <sup>ème</sup> centrifugation
Valetec	Lisier brut (container ou fosse)
	Filtrat après centrifugation
	Effluent du bioréacteur
	Effluent du décanteur (1 ou 2)

Le mode d'échantillonnage était le suivant:

- prélever 10 fois une même quantité, approximativement, de lisier brut ou lisier traité à des intervalles de temps différents dans des contenants stériles;
- homogénéiser les prélèvements pour former un échantillon composite;
- prélever 2 fois 850 mL dans 2 bouteilles stériles,
- conserver à 4°C
- analyser dans les 48h

Le nombre d'échantillons analysés par type de traitement est représenté dans le tableau 2.

**Tableau 2. Nombre des prélèvements réalisés**

Technologie	Campagnes d'échantillonnage	Nombre d'échantillons
BIOSORmd-lisier	11	44
BIOSORmd-lisier (Piézomètres)	4	8
BIOFERTILE	6	24
BIO-TERRE	10	28
VALETEC	10	39
BALCOPURE	10	38
Total	47	181

## **2. 7. CARACTÉRISATION MICROBIOLOGIQUE**

### **2. 7 .1. Souches de référence**

Les souches de référence utilisées proviennent de la collection ATCC (American type culture collection). L'utilisation des souches de référence permet de confirmer l'identité des bactéries retrouvées dans les échantillons et d'assurer les conditions de culture spécifique à celles-ci. La liste des souches utilisées dans le cadre de ce projet est présentée dans le tableau 3.

**Tableau 3. Souches de référence**

Souche	Code
<i>Salmonella</i> Typhimurium	ATCC 14028
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883

### **2. 7. 2. Dénombrement des salmonelles**

La méthode utilisée pour dénombrer les salmonelles était la méthode en tubes multiples du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (réf.: MA. 700 - Sal-tm 1.0). Brièvement, celle-ci inclut les étapes suivantes :

- Peser 50 g de l'échantillon ;
- Diluer l'échantillon dans un tampon phosphate ;
- Ensemencer 1 mL de chacune des dilutions dans des tubes contenant 10 mL du milieu enrichissement "sélénite" ;
- Inoculer le 6<sup>ème</sup> tube de chaque série de dilution avec 100 µL de la souche référence ;
- Incuber dans une étuve à 35°C pendant 24h ;
- Repiquer sur milieu sélectif XLT4 et incuber 24h à 35°C ;
- Relever les résultats (la lecture se limite à présence-absence de colonies spécifiques).

Les résultats obtenus ont été reportés sur une table de calcul ([www.tmecc.org](http://www.tmecc.org)) du nombre le plus probable pour obtenir une estimation de la concentration en bactéries dans l'échantillon. Une confirmation de l'identité des colonies dénombrées a été réalisée au moyen des galeries API 20<sup>E</sup>.

### **2. 7. 3. Dénombrement des *Escherichia coli***

Les méthodes utilisées pour dénombrer *E.coli* étaient la méthode des tubes multiples et la méthode des pétrifilms. En France, la méthode des tubes multiples a été substituée par la méthode NPP 15 puits en microplaques.

### **2. 7. 3. 1. Méthode par tubes multiples**

Cette méthode a été élaborée par le centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ) et consiste brièvement à :

- Peser 50 g de l'échantillon ;
- Diluer l'échantillon lisier brut et filtrat de séparation dans de l'eau stérilisée ;
- Ensemencer 1 ml de chacune des dilutions dans 6 tubes contenant 10 mL du réactif colilert ;
- Inoculer le 6<sup>ème</sup> tube de chaque série de dilution avec 100 µL de la souche référence ;
- Incuber dans un bain-marie à 44°C pendant 24h ;
- Relever les résultats par lecture sous UV.

Le réactif contient deux composés enzymatiques que seule *E.coli* peut métaboliser à la fois. Une coloration jaune et une fluorescence indique la présence d'*E.coli*.

Les résultats obtenus sont reportés sur une table de calcul du nombre le plus probable. Une confirmation de l'identité des colonies dénombrées est réalisée au moyen de tests biochimiques.

### **2. 7. 3. 2. Méthode en microplaques**

Le substrat colilert a été adapté selon la technique du NPP 24 tubes en microplaque "MUG" de norme AFNOR XPT 90 433 (AFNOR, 1992).

Brièvement, la méthode consiste à :

- Diluer l'échantillon dans de l'eau stérilisée ;



- Ensemencer 15 puits contenant chacun 150 µL du substrat colilert concentré 2 fois avec 150 µL d'une même dilution de l'échantillon ;
- Inoculer le 6<sup>ème</sup> tube de chaque série de dilution avec 100 µL de la souche référence ;
- Incuber dans une étuve à 44°C pendant 24h ;
- Relever les résultats par lecture sous UV.

Les résultats obtenus sont reportés sur une table de calcul du nombre le plus probable. Une confirmation de l'identité des colonies dénombrées est réalisée au moyen de tests biochimiques.

### **2. 7. 3. 3. Méthode des Pétrifilms**

La méthode des pétrifilms, développée pour la numération des *E.coli* et coliformes totaux, est une méthode qui utilise un milieu de prêt emploi. Elle comporte les principales étapes suivantes :

- Peser 25 g de l'échantillon puis diluer dans 225 mL d'eau peptonée;
- Prélever 1mL, déposer sur le milieu gélifié et recouvrir avec le film de façon à éviter la formation de bulles qui gêneraient la lecture;
- Incuber à 35°C pendant 24h;
- Relever le nombre de coliformes totaux et reincuber pendant 24h;
- Relever le nombre de *E.coli*.

Les colonies rouges associées à des bulles de gaz représentent les colonies coliformes. Les colonies bleues à rouge bleu associées à des bulles de gaz sont les colonies d'*E.coli*.

## **2. 7. 4. Dénombrement des entérocoques**

### **2. 7. 4. 1. Méthode par tubes multiples**

Cette méthode a été élaborée par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ) et elle consiste à :

- Peser 50 g de l'échantillon ;
- Diluer l'échantillon dans de l'eau stérilisée ;
- Ensemencer 1 mL de chacune des dilutions dans 6 tubes contenant 10 mL du réactif enterolert ;
- Inoculer le 6<sup>ème</sup> tube de chaque série de dilution avec 100 µL de la souche référence ;
- Incuber dans un bain-marie à 41°C pendant 24h ;
- Relever les résultats par lecture sous UV.

Le réactif contient des composés enzymatiques que seules les entérocoques peuvent métaboliser. Une fluorescence indique la présence d'entérocoques. Les tubes positifs sont notés par série de 5 tubes. Les résultats obtenus sont reportés sur une table de calcul du nombre le plus probable. Une confirmation de l'identité des colonies dénombrées est réalisée au moyen de tests biochimiques.

### **2. 7. 4. 2. Méthode de filtration sur membrane:**

Cette méthode (méthode 1600) a été développée par l'USEPA (United States Environmental Protection Agency). Seul les échantillons liquides présentant peu de matières en suspension ont été analysés par cette méthode qui consiste brièvement à :

- Prélever 3 volumes (0.5,1,2.5 mL) de l'échantillon traité et répartir dans 3 filtres;
- Mettre sous pression la pompe sous vide;
- Ajouter 2 volumes de 30 mL d'eau stérile;

- Retirer la membrane et déposer sur milieu mEI en boîte de Pétri;
- Incuber à 41°C pendant 24h;
- Relever le nombre de colonies métallisées avec un halo bleu.

Une confirmation de l'identité des colonies dénombrées est réalisée au moyen de tests biochimiques.

### **2. 7. 5. Dénombrement des *Clostridium perfringens***

La méthode utilisée pour dénombrer les spores de *Clostridium perfringens* est la méthode des NPP 3 tubes développée par l'Institut Pasteur de Lille, modifiée et adaptée à notre substrat par le laboratoire du Cemagref.

Brièvement, elle consiste à:

- Peser 10 g de l'échantillon et diluer dans 90 mL de tryptone sel;
- Réaliser un choc thermique au bain-marie à 80°C pendant 20 mn, puis incuber 15 mn à 45°C;
- Diluer l'échantillon jusqu'à  $10^{-6}$  dans le tryptone sel;
- Ensemencer 1mL de chaque dilution dans 3 tubes contenant le bouillon thioglycollate additionné de 0,1 mL D-cyclosérine (à 40 g L<sup>-1</sup>);
- Relever les tubes présentant une production de gaz et un aspect trouble;
- Prélever l'équivalent de 5 gouttes des tubes positifs et repiquer dans le bouillon lactose-sulfite;
- Incuber à 46°C pendant 24h;
- Relever les tubes présentant une production de gaz (H<sub>2</sub>S) et ayant un aspect trouble.

Les résultats obtenus sont reportés sur une table de calcul du nombre le plus probable. Une confirmation de l'identité des colonies dénombrées est réalisée au moyen de tests biochimiques.

## **2. 7. 6. Détection des ookystes de *Cryptosporidium* et des kystes de *Giardia***

La méthode utilisée pour dénombrer les ookystes de *Cryptosporidium* et les kystes de *Giardia* était la méthode 1623 (EPA-821-R-01-025) adaptée pour les échantillons présentant beaucoup de matières en suspension. Elle consiste à :

- Peser 10 g d'échantillon et additionner de 40 mL de solution dispersante;
- Mettre sous agitation à 150 rpm pendant 10 mn et filtrer à l'aide d'une gaze stérile;
- Prélever 10 mL du filtrat, additionner 40 ml d'eau stérile et agiter pendant 10 mn à 150 rpm;
- Centrifuger pendant 20 mn à 2200 tours;
- Ajuster le volume selon la dimension du culot et resuspendre;
- Prélever 5 mL de l'échantillon filtré;
- Ajouter 1 mL des tampons A et B et 100 µL des microbilles anti-*Cryptosporidium* et anti-*Giardia* (Dynal) et incubé pendant 1h sous agitation;
- Ajouter 2 x 50 µL de solution d'HCl et neutraliser à l'aide de NaOH;

Le dénombrement des (oo)kystes de *Cryptosporidium* et *Giardia* a été fait par immunofluorescence à l'aide du kit Mérifluor selon les recommandations du fabricant. De plus, la technique de PCR a été utilisée pour vérifier la présence des parasites. L'extraction de l'ADN a été faite en exposant les (oo)kystes à dix cycles de gel et de dégel et en utilisant la trousse Qiagen pour les matières fécales, selon les recommandations du fabricant.

## **2. 8. Analyses physico-chimiques**

Les paramètres physico-chimiques suivants ont été mesurés sur les échantillons à l'étude :

- Température et pH
- Acides gras volatils (AGV)
- Solides totaux

- Azote total et ammoniacal
- P, K, Ca, Mg, Al, Fe, Cu, Zn, Mn, B, Na
- DCO (demande chimique en oxygène)
- DBO (demande biochimique en oxygène)

La température et le pH des échantillons ont été enregistrés lors du prélèvement de l'échantillon.

Au Québec, les AGV ont été mesurés par chromatographie en phase gazeuse au laboratoire d'Agriculture et agroalimentaire Canada de Lennoxville. Les solides totaux ainsi que l'azote ammoniacal ont été mesurés au laboratoire du CRIQ selon les méthodes SMEWW 2540 et SMEWW 4500-NH<sub>3</sub> respectivement. Le phosphore, potassium, calcium, magnésium, aluminium, fer, cuivre, zinc, manganèse, bore et sodium ont été mesurés au laboratoire agroenvironnemental de l'IRDA.

En France, les AGV ont été mesurés par chromatographie en phase liquide et en phase gazeuse au laboratoire du Cemagref. La détermination des solides totaux a été faite selon la norme EN 12880. L'azote total a été déterminé par la méthode AFNOR NF EN 13654-2. L'azote ammoniacal a été mesuré par distillation selon la méthode NF EN 13342. Les autres paramètres physico-chimiques ont été mesurés au Laboratoire de Développement et d'Analyse (LDA).

## **2. 9. Analyse statistique**

Une analyse de variance a été faite dans le but de préciser si chacune des étapes de traitement des lisiers, pour une technologie donnée, a un effet significatif sur la population microbienne présente dans le substrat issu des étapes précédentes. Les corrélations entre les mesures effectuées lors de visites consécutives ont été considérées comme étant négligeables par rapport à celles qui existent entre les observations effectuées aux différentes étapes lors d'une même visite. Ainsi, les

observations faites lors des visites consécutives ont été considérées comme étant indépendantes, alors que les mesures prises aux différentes étapes d'une même visite sont corrélées et ont été considérées comme des mesures répétées. Ces corrélations ont été prises en compte dans l'analyse de variance en utilisant l'énoncé REPEATED de la procédure MIXED de SAS (Littell et al. 1996). Les données ayant une distribution très asymétrique, la transformation logarithmique en base 10 a été appliquée.

Pour chaque technologie et chaque population microbienne, le modèle statistique s'écrit ainsi :

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

où

$y_{ij}$  est le log du compte de la population microbienne observé à l'étape  $i$  lors de la visite  $j$ ,

$\mu$  est un paramètre de référence,

$\alpha_i$  est l'effet fixe correspondant à l'étape  $i$ ,  $i=1,2,3,4$ ,

$e_{ij}$  est l'erreur résiduelle associée à l'étape  $i$  lors de la visite  $j$ ,  $j=1,2,\dots,10$ .

Pour ce modèle, on suppose que le vecteur  $\mathbf{e}_j = (e_{1j}, e_{2j}, e_{3j}, e_{4j})$  des erreurs résiduelles pour les 4 étapes de la visite  $j$  ont une distribution normale multivariée  $N(\mathbf{0}, \Sigma)$ , où  $\mathbf{0}$  est un vecteur nul  $4 \times 1$  et  $\Sigma$  est une matrice  $4 \times 4$  de variance covariance.

Les moyennes ajustées au modèle pour chacune des étapes sont calculées, toujours en  $\log_{10}$ , ainsi que les erreurs standards et les bornes des intervalles de confiance à 95%. Le test de T n'est pas utile dans ce cas. Les tests de comparaisons entre les étapes de traitements ont été effectués au seuil de 5 %. Puisque plusieurs tests de comparaisons ont été réalisés simultanément, le risque de trouver au moins une différence significative à tort s'accroît. La correction de Bonferroni a été appliquée afin de protéger le seuil global de 0,05 à l'aide de l'option ADJUST=BON de l'énoncé

LSMEANS. Certaines variables microbiologiques n'ont pas été analysées en raison d'un trop grand nombre de données manquantes.

La distribution des données n'étant pas normale, l'examen des corrélations entre les paramètres microbiologiques et physico-chimiques a été fait en leur assignant un rang. Le calcul du coefficient de Spearman a été fait en se basant sur ces rangs à l'aide de l'option SPEARMAN de la procédure PROC CORR de SAS. Comme les observations paires doivent être indépendantes, seules les observations de l'étape 1 (avant traitement) de chacune des technologies sont considérées pour l'analyse des corrélations

### **3. RÉSULTATS ET DISCUSSION**

#### **3. 1. Contexte de l'étude**

Les données issues de cette étude proviennent d'échantillons prélevés sur différents sites de traitement à l'échelle de la ferme. Ceux-ci sont situés dans des zones dont les conditions climatiques diffèrent. Il est reconnu que la température influence la persistance des microorganismes pathogènes et indicateurs du lisier de porc. Par ailleurs, la source de lisier diffère pour chaque site de traitement. Les propriétés physico-chimiques du lisier influencent la persistance des microorganismes. De plus, les souches microbiennes et leurs propriétés diffèrent. Certaines de ces particularités, telle que la résistance aux antibiotiques, influencent le potentiel de survie des microorganismes en cours de traitement.

La présence de facteurs confondants (ex. source de lisier, conditions climatiques) empêche donc une comparaison rigoureuse des technologies entre elles. C'est pourquoi les résultats seront présentés par technologie dans les prochaines pages, en mettant l'emphasis sur l'impact de chaque étape d'un traitement. La valeur « 0 » a été attribuée aux résultats se situant sous la limite de détection.

La méthode de détermination des populations de *Clostridium perfringens* utilisée lors de la première phase du projet (Québec) s'est avérée inadéquate pour les substrats à l'étude puisque la lecture des résultats était difficile. C'est pourquoi elle a été changée lors de deuxième phase en France (tubes multiples). Afin de compléter l'évaluation des technologies québécoises, quelques campagnes d'échantillonnage ont été faites au cours de l'été 2006 pour la détermination de ce paramètre.

#### **3. 2. Procédé Biofertile-F**

Une augmentation du pH a été observée au cours du traitement, passant d'environ 6,5 dans le lisier non-traité à 8,5 après le polissage (figure 7). Une nette



augmentation de la température a été observée dans l'échantillon prélevé à la sortie du bioréacteur, comparativement aux autres étapes du traitement (figure 8).

Chaque étape du traitement du procédé Biofertile évaluée dans le cadre de ce projet a entraîné une réduction statistiquement significative des populations de *E. coli* et ce, pour les deux méthodes de dénombrement utilisées, soient les tubes multiples et les pétrifilms (figures 9-10; tableau 4).

Globalement, l'application des quatre étapes du traitement a entraîné une réduction de 99,99 % des populations de *E. coli* et d'entérocoques, alors qu'une réduction de près de 89 % des populations de *Salmonella* spp. a été observée (figures 9-12, 14; tableau 4). Les populations de *Salmonella* spp. dans le lisier brut étant plutôt faibles, il est toutefois difficile d'estimer le potentiel réel du traitement envers ce microorganisme. La présence de *Cryptosporidium* a été observée dans 2/6 échantillons de lisier brut. Toutefois, ce parasite n'a été observé dans aucun échantillon après le polissage.

La première étape de séparation a permis de réduire de plus de 95 % les populations de *E. coli* retrouvées dans la phase liquide comparativement au lisier brut. Quant aux entérocoques, la réduction fut de 92 % (tableau 4). Une part de cette réduction pourrait être attribuable à l'entreprise puisque les échantillons ont été prélevés dans le bassin de sédimentation accumulant le liquide issu de la séparation. L'entreposage peut entraîner une réduction importante des populations microbiennes, tel qu'observé par Côté et Quessy (2006). Il n'est donc pas possible de distinguer l'effet de la séparation de celui de l'entreposage sur les populations microbiennes en raison du mode d'échantillonnage à ce site expérimental.

Il est par ailleurs important de faire la distinction entre une réduction statistiquement significative des populations microbiennes et une diminution des populations ayant un impact pratique réel. Prenons l'exemple de la disposition du sous-produit liquide pour fins d'irrigation. Les normes actuelles concernant la qualité microbiologique de l'eau

utilisée pour l'irrigation varient généralement entre 100 et 1 000 UFC/100ml pour les coliformes fécaux (Annexe 6). Dans cette étude, une réduction de près de 99, 80 % des populations de *E. coli* a été observée dans la phase liquide prélevée à la sortie du bioréacteur, comparativement au lisier non-traité. Malgré tout, la qualité microbienne de ce sous-produit serait insuffisante pour l'irrigation selon ces normes. En effet, la moyenne des décomptes bactériens s'élève à 41 600 NPP/100 ml (méthode des tubes multiples) et 79 500 UFC/100 ml (méthode des pétrifilms). Par contre, l'étape du polissage a permis de réduire les populations à 700 NPP/100 ml (tubes multiples) et 1 100 UFC/100 ml (pétrifilms).

Les streptocoques fécaux (incluant les entérocoques) sont parfois utilisés pour décrire la qualité de l'eau. Cet indicateur, dont la persistance dans l'environnement est souvent supérieure à celle des coliformes fécaux, est particulièrement utile pour indiquer la présence possible de virus entériques (Steele et Odumeru, 2004). Dans le contexte de cette étude, il est important de noter que peu de virus sont transmissibles du porc à l'humain par la voie fécale-orale. Le niveau de risque pour l'humain relié aux virus entériques est donc moindre lorsque la contamination est d'origine porcine, comparativement à celui relié à une contamination fécale d'origine humaine. Par contre, une attention particulière devrait être portée si l'eau est utilisée pour irriguer des cultures destinées à la consommation porcine. Les populations d'entérocoques après le polissage s'élevaient en moyenne à 1 NPP/g humide. Le produit final est donc de bonne qualité. Il faut toutefois préciser que la plupart des échantillons ont dû être analysés par la méthode des tubes multiples (contrairement à la méthode conventionnelle de filtration sur membrane pour les échantillons d'eau) en raison de la présence de matières en suspension empêchant la filtration. La méthode des tubes multiples étant moins sensible que la filtration sur membrane, il est raisonnable de croire que des comptes plus élevés auraient pu être observés. Enfin, le polissage apparaît comme une étape importante pour réduire les populations de *Clostridium perfringens* (figure 13), alors que l'effet des autres étapes préliminaires du traitement apparaît beaucoup moindre.

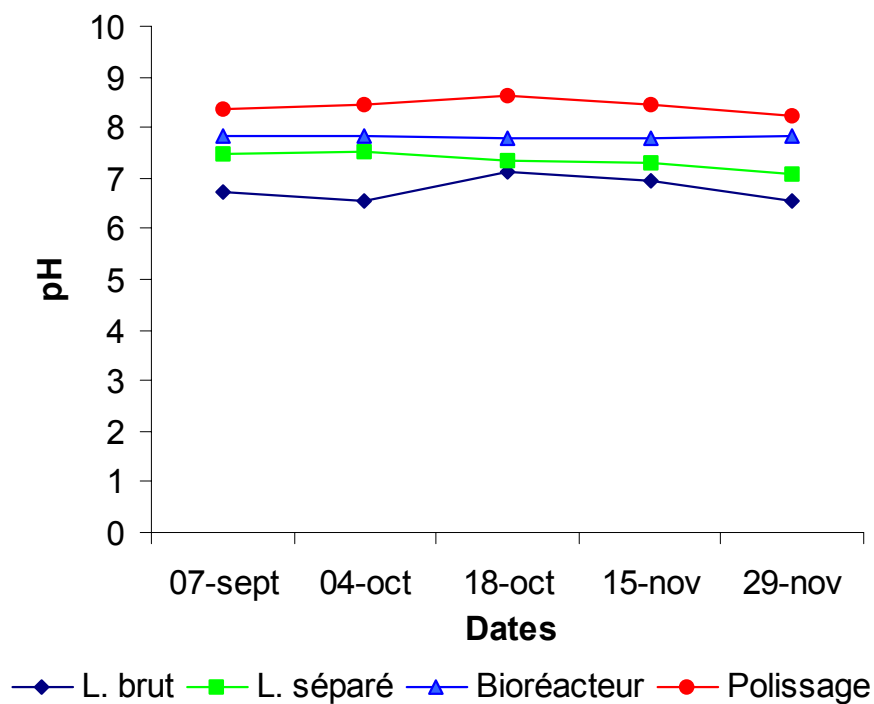


Figure 7. Valeurs de pH à différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Biofertile-F.

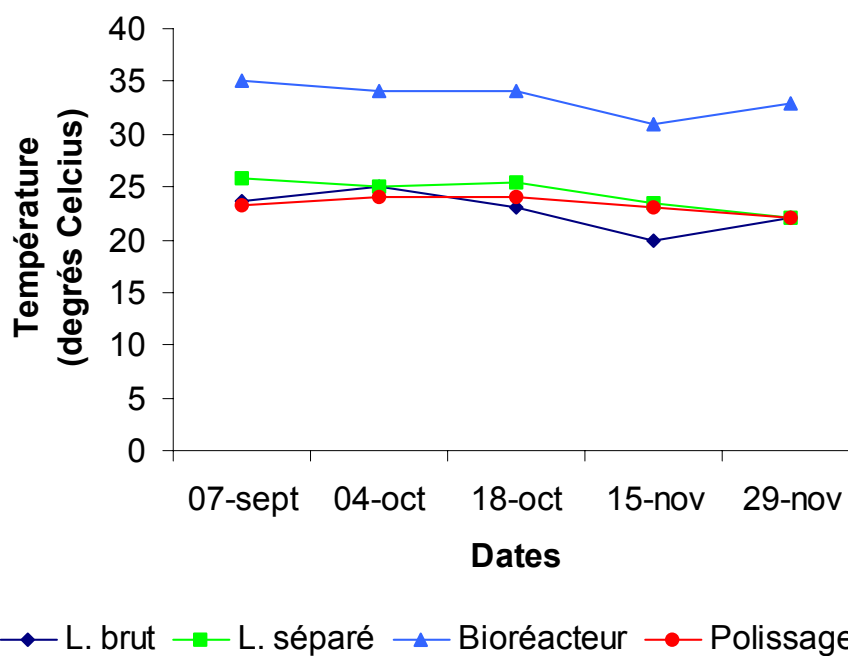


Figure 8. Valeurs de températures à différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Biofertile-F.

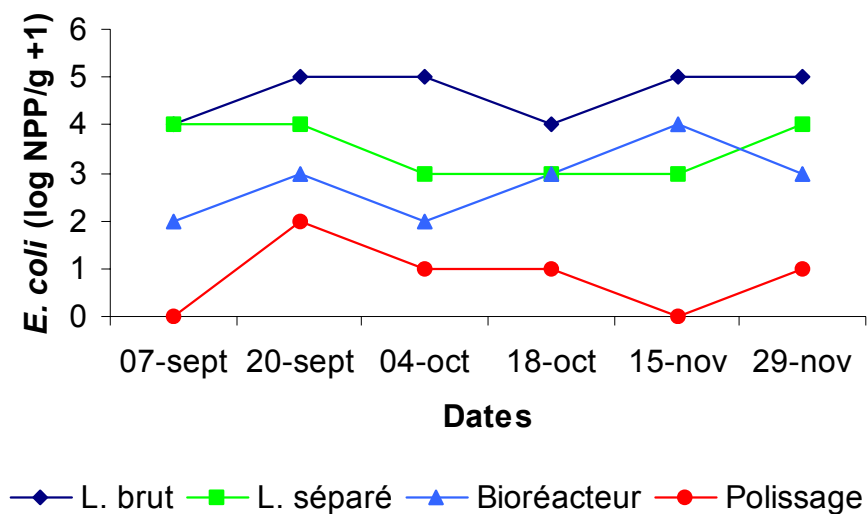


Figure 9. Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des tubes multiples à différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Biofertile-F.

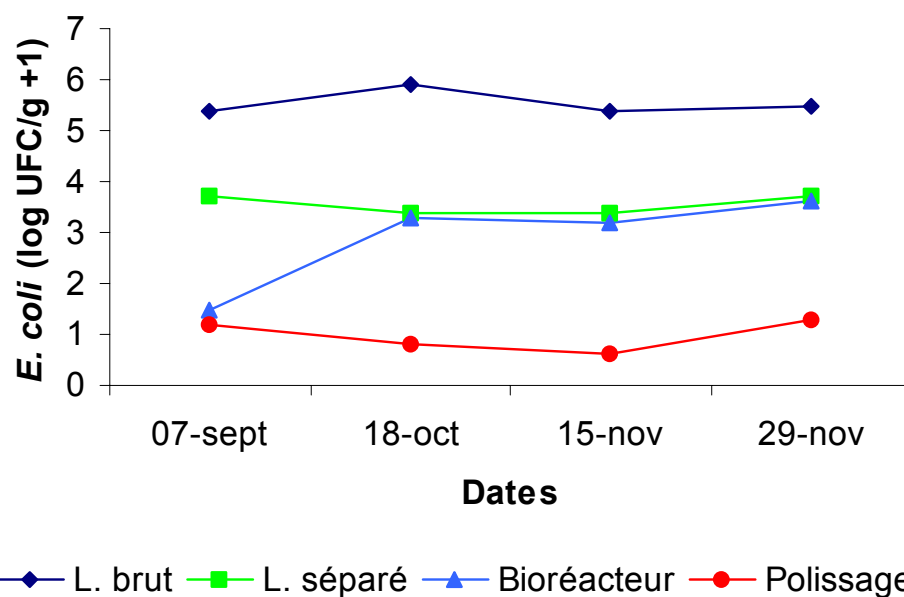
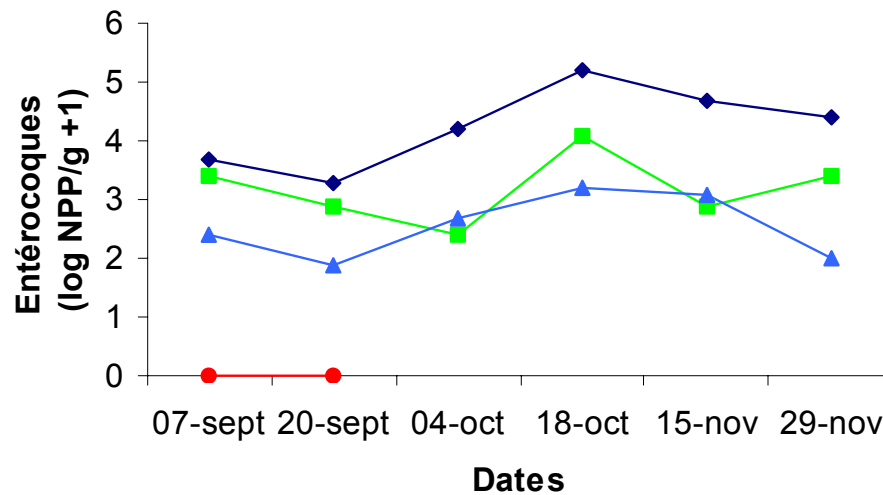
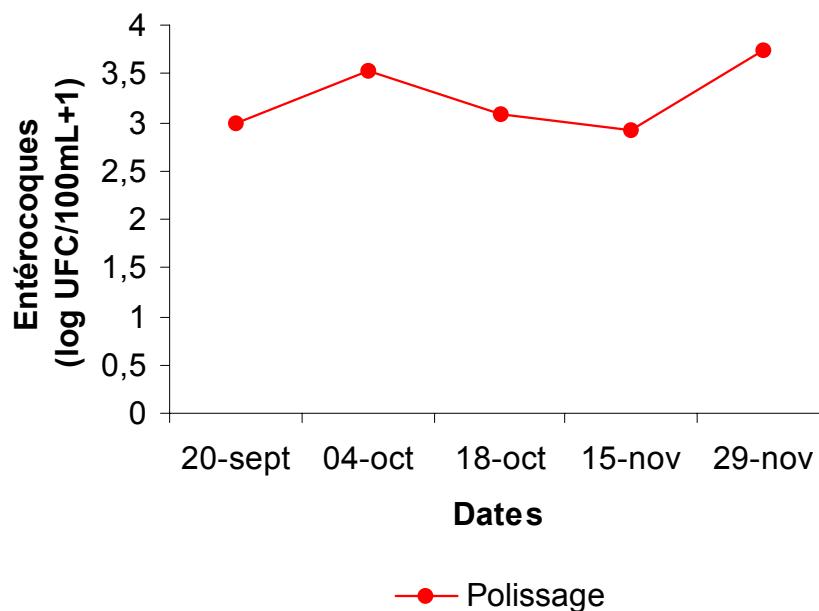


Figure 10. Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des Pétrifilms à différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Biofertile-F.



—◆— L. brut —■— L. séparé —▲— Bioréacteur —●— Polissage

Figure 11. Populations d'entérocoques déterminées par la méthode des tubes multiples à différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Biofertile-F.



—●— Polissage

Figure 12. Populations d'entérocoques déterminées par la méthode de filtration sur membrane pour l'étape de polissage du lisier de porc par le procédé Biofertile-F.

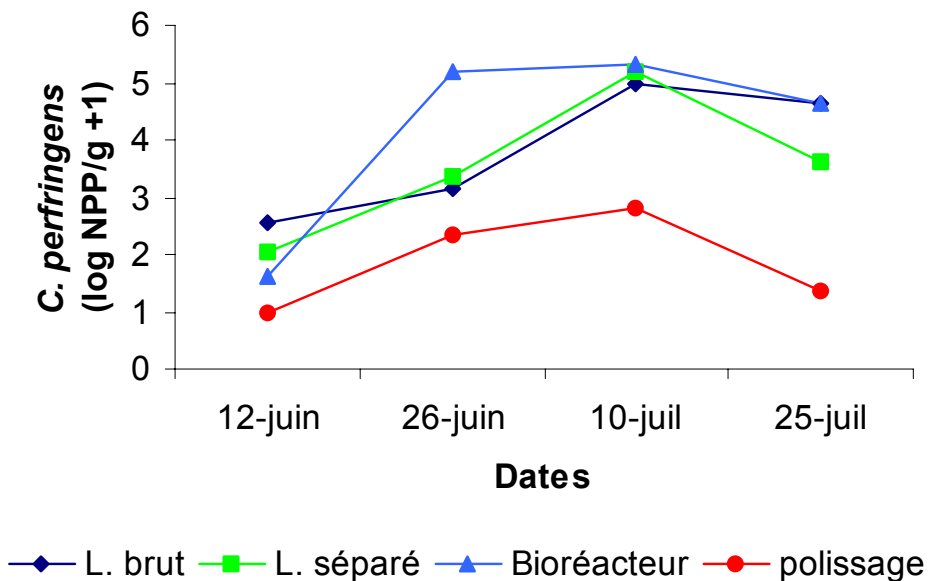


Figure 13. Populations de *Clostridium perfringens* déterminées en 2006 par la méthode de tubes multiples pour l'étape de polissage du lisier de porc par le procédé Biofertile-F.

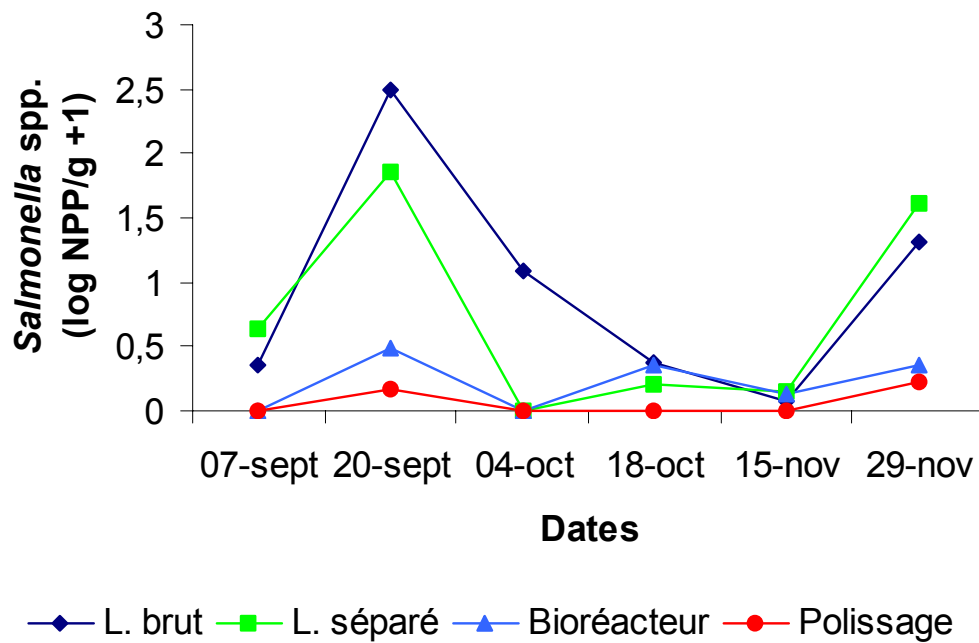


Figure 14. Populations de *Salmonella* spp. déterminées par la méthode de tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Biofertile-F.

**Tableau 4. Résultats des tests de comparaisons entre les étapes du traitement du lisier de porc par le procédé Biofertile-F.**

	Lisier brut	Phase liquide après séparation	Sortie du bioréacteur	Après polissage
<i>E. coli</i> (log NPP/g+1) <sup>1</sup>	5,0027 a	3,6413 b	2,6194 c	0,8533 d
<i>E. coli</i> (NPP/g+1) <sup>1</sup>	100 623	4 378	416	7
* Réduction (%)		95,65	99,59	99,99
<i>E. coli</i> (log UFC/ml+1) <sup>2</sup>	5,5517 a	3,5768 b	2,9004 b	1,0307 c
<i>E. coli</i> (UFC/ml+1) <sup>2</sup>	356 205	3 774	795	11
* Réduction (%)		98,94	99,78	99,99
<i>Salmonella</i> spp. (log NPP/g+1)	0,9394 a	0,7417 a	0,2224 b	0,0653 b
<i>Salmonella</i> spp. (NPP/g+1)	9	5	2	1
* Réduction (%)		44,44	77,78	88,89
Entérocoques (log NPP/g+1) <sup>3</sup>	4,2499 a	3,1724 b	2,5401 c	0,1496 d
Entérocoques (NPP/g+1) <sup>3</sup>	17 779	1 487	347	1
* Réduction (%)		91,63	98,05	99,99

Les résultats avec une lettre différente sont significativement différents (seuil de 5%).

<sup>1</sup> Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des tubes multiples

<sup>2</sup> Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des pétrifilms

<sup>3</sup> Populations d'entérocoques déterminées par la méthode des tubes multiples

\* Pourcentage de réduction des populations microbiennes comparativement au lisier non-traité

### 3. 3. Procédé BIOSORmd-lisier

Les échantillons prélevés à la sortie du biofiltre avaient un pH (environ 8) légèrement supérieur à celui observé aux autres étapes du traitement (entre 6 et 7) (figure 15). Bien que la température des échantillons prélevés après le polissage présentent une température généralement supérieure à celle des échantillons prélevés aux autres étapes du traitement, l'effet des saisons était plus important, avec une diminution progressive d'environ 10°C au cours de la période d'échantillonnage de septembre à mars (figure 16).

Chaque étape de traitement du procédé BIOSORmd-LISIER a entraîné une réduction statistiquement significative des populations de *E. coli* déterminées par les méthodes de tubes multiples et des pétrifilms (figures 17-18; tableau 5). L'étape de la séparation a permis de réduire les populations de cette bactérie de plus de 97 %. Globalement, les populations de *E. coli* ont été réduites de 99,99 % par les 4 étapes du traitement (tableau 5).

Il est difficile de préciser le potentiel du traitement sur les populations de *Salmonella* spp. puisque les populations dans le lisier brut étaient faibles. L'effet significatif des trois premières étapes du traitement a quand même pu être observé (tableau 5; figure 21). La présence de *Cryptosporidium* a été observée dans 4/11 échantillons de lisier brut. Toutefois, aucun parasite n'a été détecté après le polissage.

Les échantillons provenant des étapes 1 et 2 ont été analysés par la méthode des tubes multiples pour le dénombrement des entérocoques, alors que la filtration sur membrane a été appliquée aux deux dernières étapes du traitement (figure 19; tableau 5). La séparation a permis de réduire les populations d'entérocoques de plus de 97 % (tableau 5). Cette étape apparaît aussi comme étant très importante pour la réduction des populations de *Clostridium perfringens* (figure 20). Les populations de ce dernier groupe de bactéries étaient généralement sous la limite de détection après le passage dans le biofiltre et le polissage.



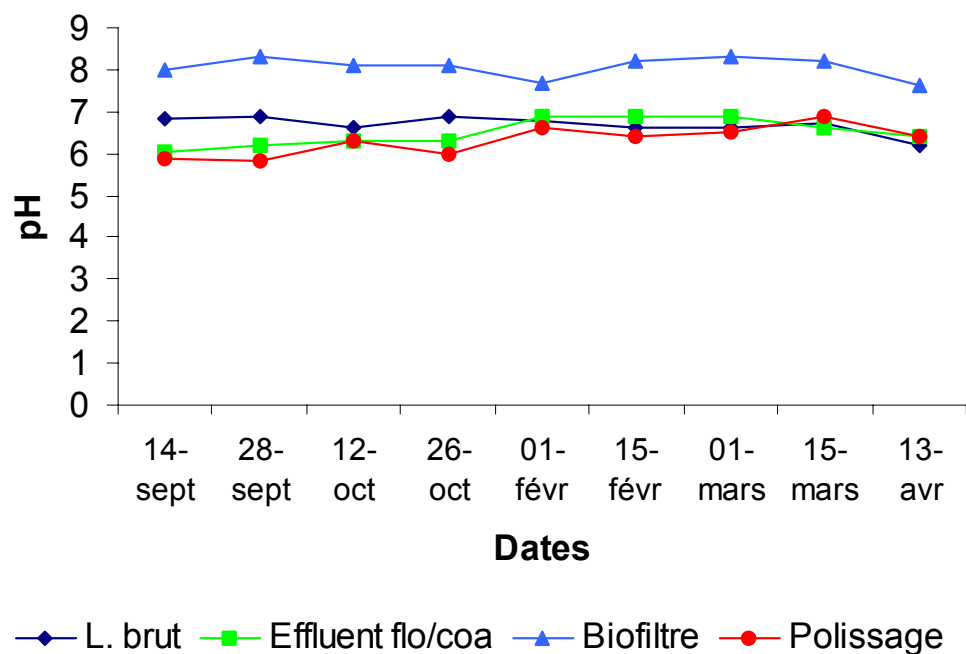


Figure 15. Valeurs de pH déterminées pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé BIOSORmd-lisier.

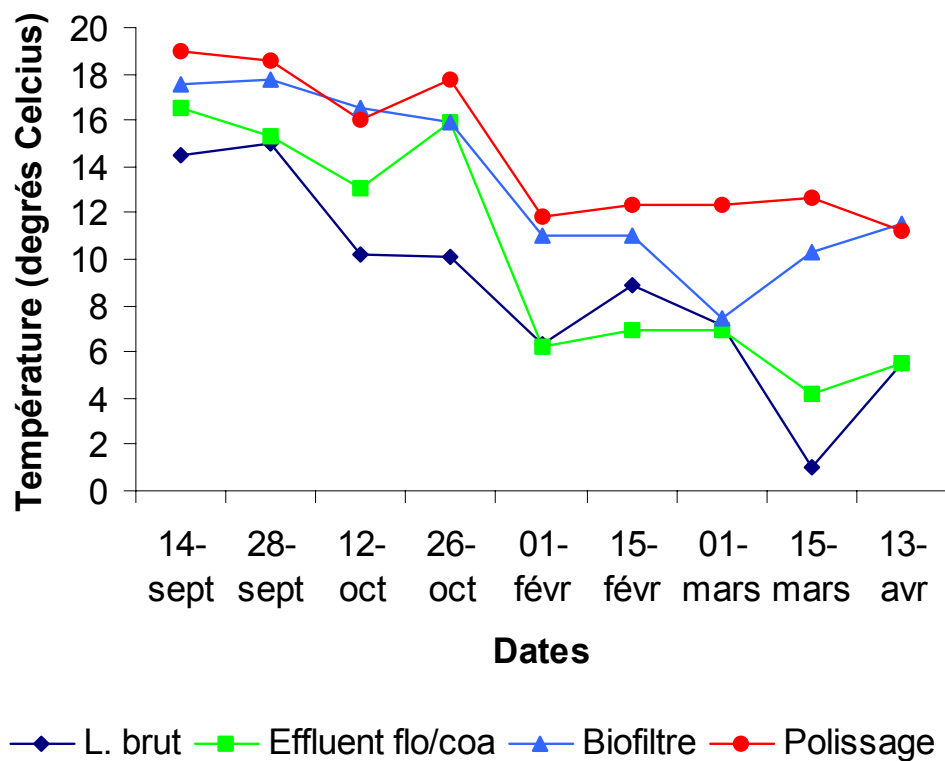


Figure 16. Valeurs de température déterminées pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé BIOSORmd-lisier.

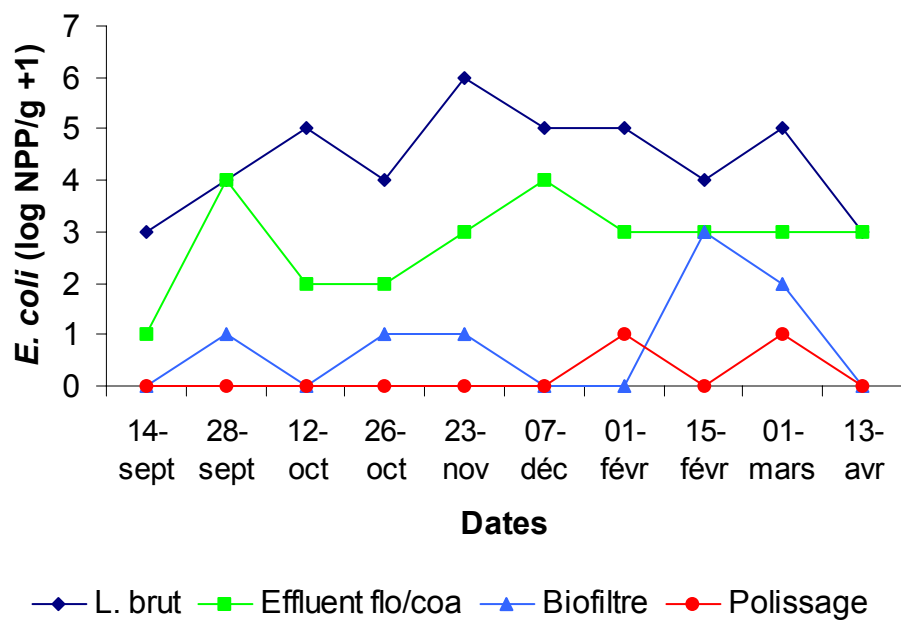


Figure 17. Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé BIOSORmd-lisier.

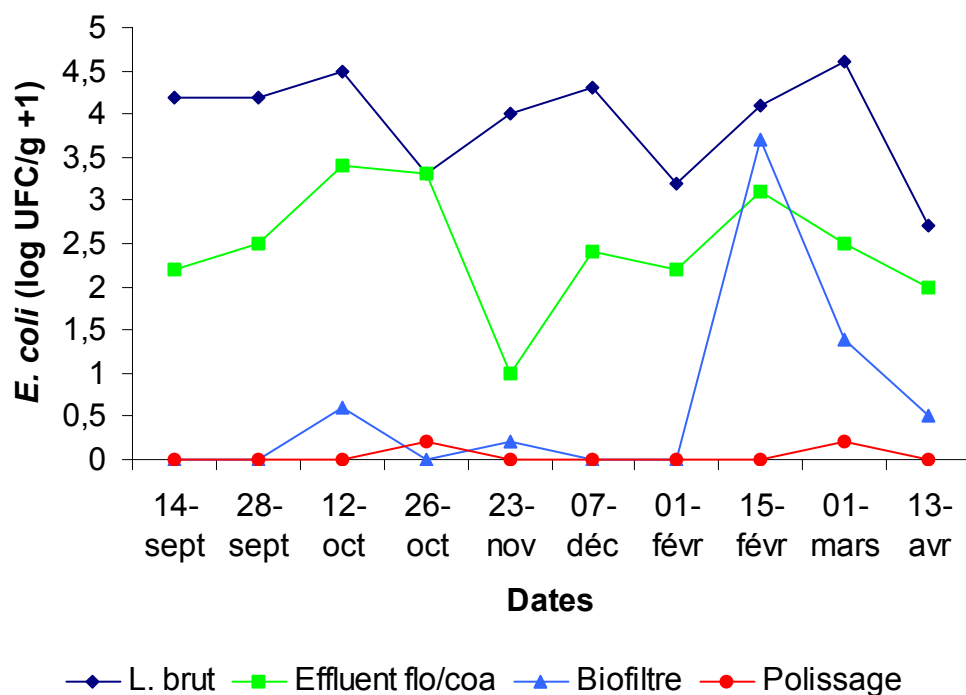


Figure 18. Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des Pétrifilms pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé BIOSORmd-lisier.

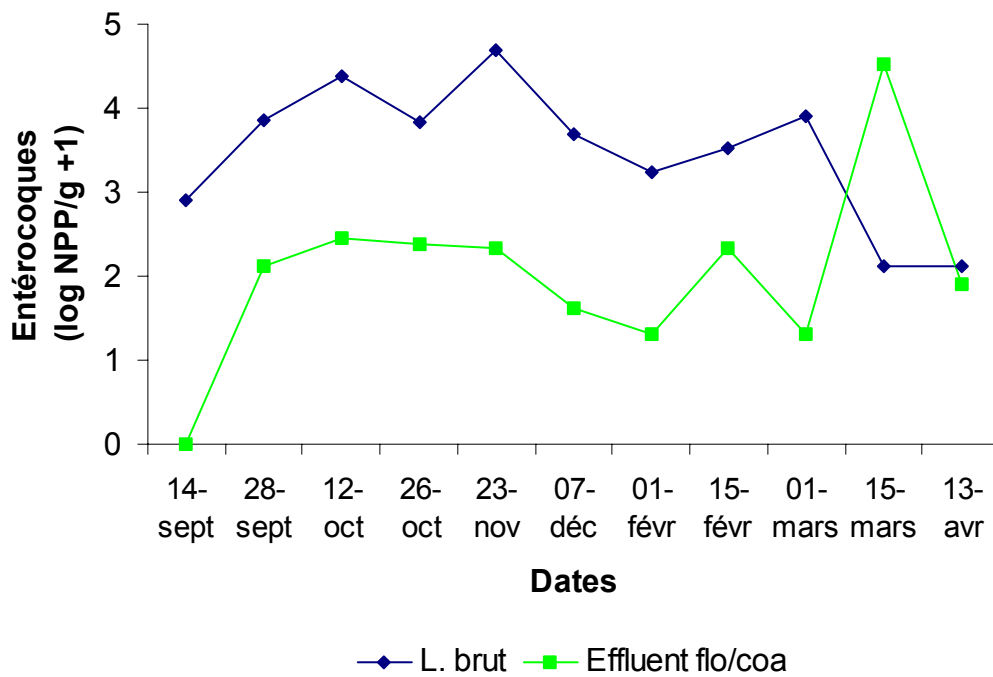


Figure 19. Populations d'entérocoques déterminées par la méthode des tubes multiples pour deux étapes de traitement du lisier de porc par le procédé BIOSORmd-lisier.

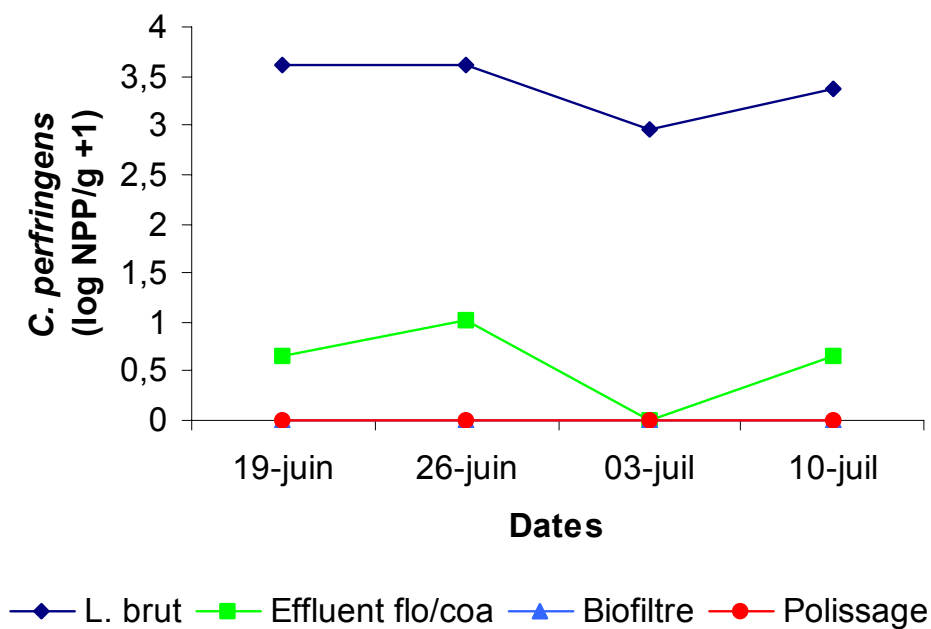


Figure 20. Populations de *Clostridium perfringens* déterminées en 2006 par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé BIOSORmd-lisier.

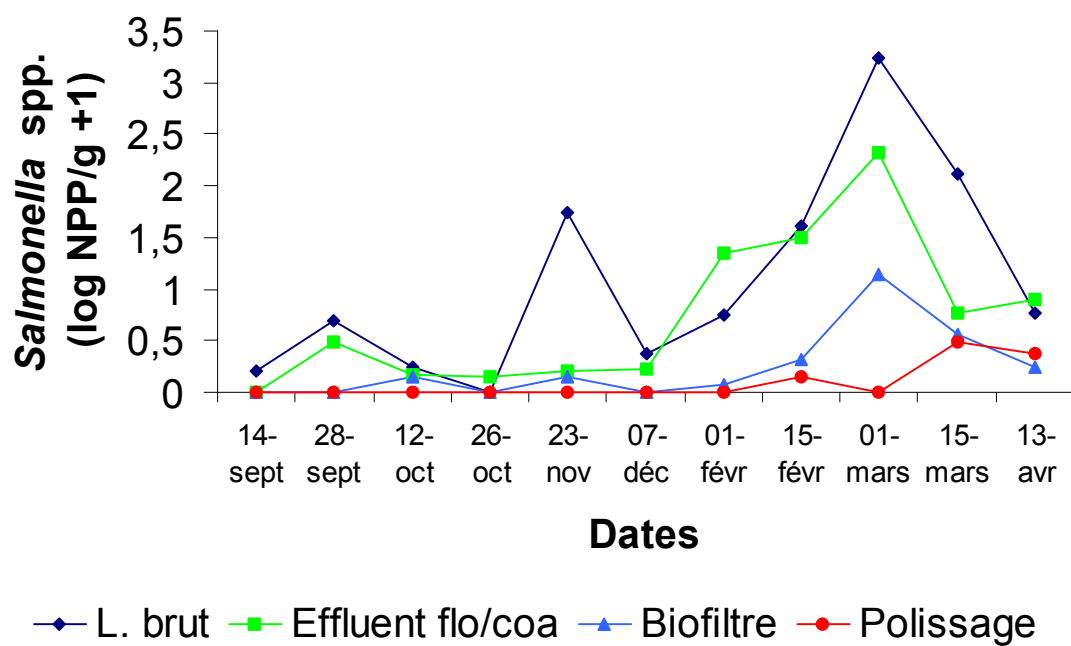


Figure 21. Populations de *Salmonella* spp. déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé BIOSORmd-lisier.

**Tableau 5. Résultats des tests de comparaisons entre les étapes du traitement du lisier de porc par le procédé BIOSORmd-lisier.**

	<b>Lisier brut</b>	<b>Phase liquide après séparation</b>	<b>Sortie du biofiltre</b>	<b>Après polissage</b>
<i>E. coli</i> (log NPP/g+1) <sup>1</sup>	4,3363 a	2,7322 b	0,8361 c	0,1685 d
<i>E. coli</i> (NPP/g+1) <sup>1</sup>	21 692	540	7	1
* Réduction (%)		97,51	99,97	99,99
<i>E. coli</i> (log UFC/ml+1) <sup>2</sup>	3,9142 a	2,3774 b	0,7791 c	0,0000 d
<i>E. coli</i> (UFC/ml+1) <sup>2</sup>	8 207	238	6	1
* Réduction (%)		97,10	99,93	99,99
<i>Salmonella</i> spp. (log NPP/g+1)	1,0695 a	0,7312 b	0,2327 c	0,0925 c
<i>Salmonella</i> spp. (NPP/g+1)	12	5	2	1
* Réduction (%)		58,33	83,33	91,67
Entérocoques (log NPP/g+1) <sup>3</sup>	3,4745 a	1,7878 b	n. d. <sup>5</sup>	n. d.
Entérocoques (NPP/g+1) <sup>3</sup>	2 982	61		
* Réduction (%)		97,95		
Entérocoques (log UFC/100 ml+1) <sup>4</sup>	n. d.	n. d.	3,3461	2,8787 a
Entérocoques (UFC/100 ml+1) <sup>4</sup>			2 219	756
* Réduction (%)				65,93

Les résultats avec une lettre différente sont significativement différents (seuil de 5%).

<sup>1</sup> Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des tubes multiples.

<sup>2</sup> Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des pétrifilms.

<sup>3</sup> Populations d'entérocoques déterminées par la méthode des tubes multiples.

<sup>4</sup> Populations d'entérocoques déterminées par la méthode de filtration sur membrane.

<sup>5</sup> non déterminé (n. d.)

\* Pourcentage de réduction des populations microbiennes comparativement au lisier non-traité

### 3. 4. Procédé Bioterre

Le procédé Bio-terre ne comportait qu'une seule étape de traitement, soit la digestion anaérobie psychrophile. Ce traitement a permis de réduire statistiquement significativement les populations de *E. coli*, *Salmonella* spp. et entérocoques (figures 22, 23, 25; tableau 6). La qualité de l'effluent était en moyenne de 34 et 74 NPP/g pour *E. coli* et les entérocoques respectivement, soit environ 3 400 NPP/100 mL (*E. coli*) et 7 400 NPP/100 mL (entérocoques). Le substrat final devrait donc être utilisé avec prudence pour l'irrigation des cultures, en laissant par exemple un délai maximal entre l'irrigation et la récolte pour réduire le risque de contamination microbienne des produits. Les populations de *Clostridium perfringens* ont été réduites d'environ 1 logarithme par le traitement (figure 24). La présence de *Cryptosporidium* a été observée dans 4/10 échantillons de lisier brut. De plus, deux échantillons ont été trouvés positifs à ce parasite après la digestion.

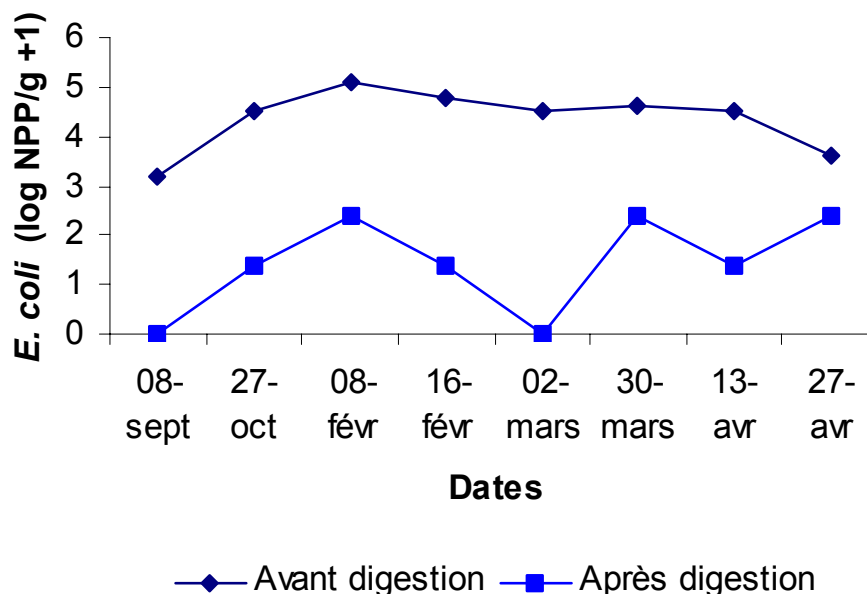


Figure 22. Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Bio-terre.

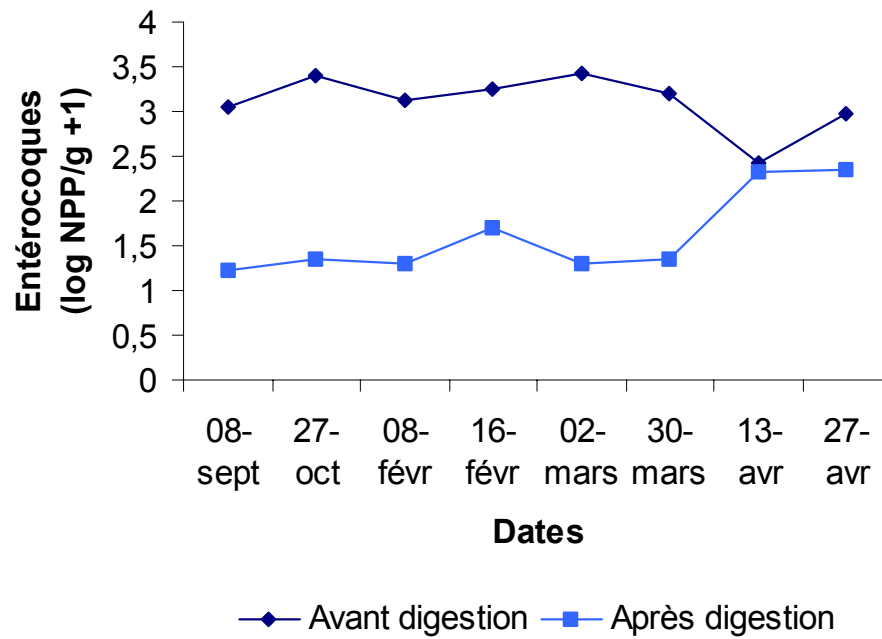


Figure 23. Populations d'entérocoques déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Bio-terre.

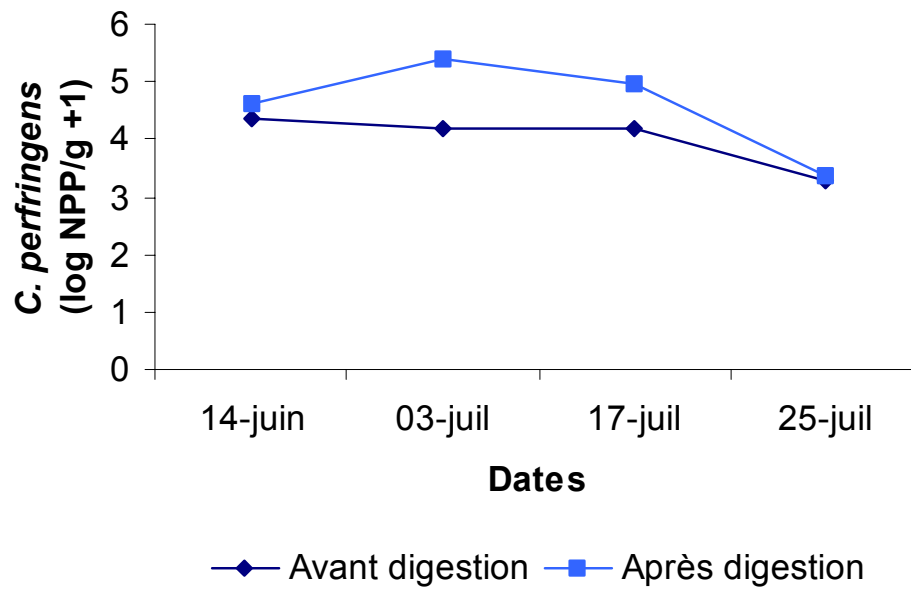


Figure 24. Populations de *Clostridium perfringens* déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Bio-terre.

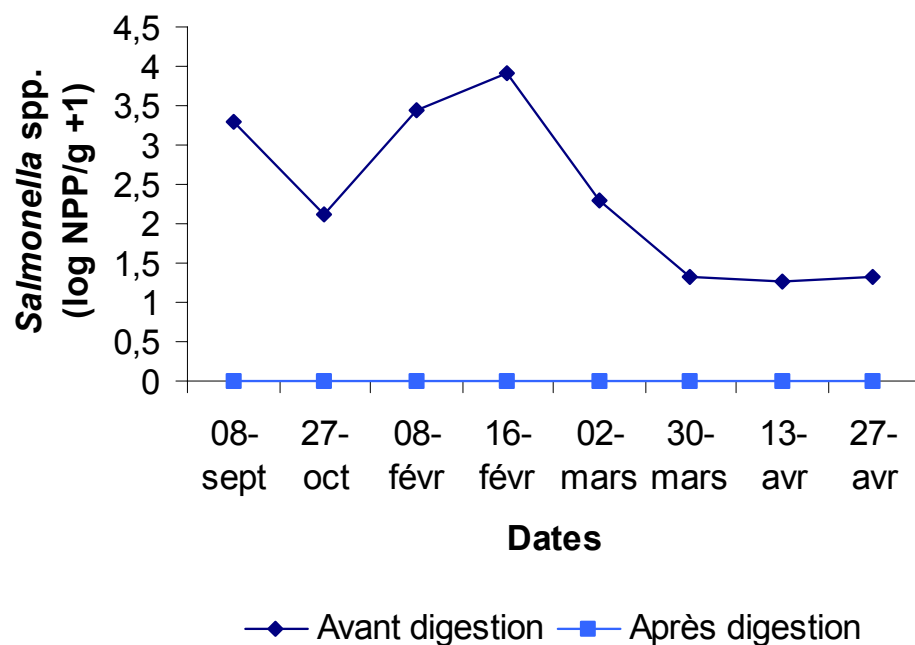


Figure 25. Populations de *Salmonella* spp. déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Bio-terre.



**Tableau 6. Résultats des tests de comparaisons entre les étapes du traitement du lisier de porc par le procédé Bio-terre.**

	Lisier brut	Phase liquide après digestion
<i>E. coli</i> (log NPP/g+1) <sup>1</sup>	4,0419 a	1,5316 b
<i>E. coli</i> (NPP/g+1) <sup>1</sup>	11 013	34
* Réduction (%)		99,69
<i>Salmonella</i> spp. (log NPP/g+1) <sup>2</sup>	1,3692 a	0,1213 b
<i>Salmonella</i> spp. (NPP/g+1) <sup>2</sup>	23	1
* Réduction (%)		95,65
Entérocoques (log NPP/g+1) <sup>3</sup>	3,0811 a	1,8693 b
Entérocoques (NPP/g+1) <sup>3</sup>	1 205	74
* Réduction (%)		93,86

Les résultats avec une lettre différente sont significativement différents (seuil de 5%).

<sup>1</sup> Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des tubes multiples.

<sup>2</sup> Populations d'entérocoques déterminées par la méthode des tubes multiples.

<sup>3</sup> Populations d'entérocoques déterminées par la méthode de filtration sur membrane.

\* Pourcentage de réduction des populations microbiennes comparativement au lisier non-traité

### 3. 5. Procédé Valettec

Aucune fluctuation importante du pH et de la température n'a été observée dans les échantillons prélevés aux différentes étapes du traitement (figures 26-27).

La séparation n'a pas permis de réduire significativement les populations de *E. coli*, entérocoques et *Clostridium perfringens* dans la phase liquide comparativement au lisier brut (figures 28-32; tableau 7). Ceci pourrait s'expliquer par le mode de

séparation (centrifugation) qui ne permet pas une redistribution des microorganismes à l'étude. De plus, les échantillons ayant été prélevés directement à la sortie de la centrifugeuse, aucun effet d'entreposage n'a pu contribuer à réduire les populations microbiennes.

Toutefois, à la sortie du bioréacteur, les populations de *E. coli* étaient réduites de 99,05 % (tubes multiples) et 98,08 % (pétrifilms), alors que celles des entérocoques avaient diminué de 88,05 % (tableau 7). Globalement, la réduction des populations suite aux quatre étapes du traitement fut de plus de 99 % pour *E. coli* et les entérocoques et de plus de 91 % pour *Clostridium perfringens* (tableau 7).

Aucune analyse statistique n'a été faite sur les populations de *Salmonella* spp. puisque cette bactérie n'a été trouvée que dans un seul échantillon au cours de l'étude (figure 32).

Les populations moyennes de *E. coli* dans l'effluent final étaient inférieures à 1000 UFC/100 mL (limite maximale des recommandations émises pour la qualité de l'eau d'irrigation) (tableau 7; annexe 6).

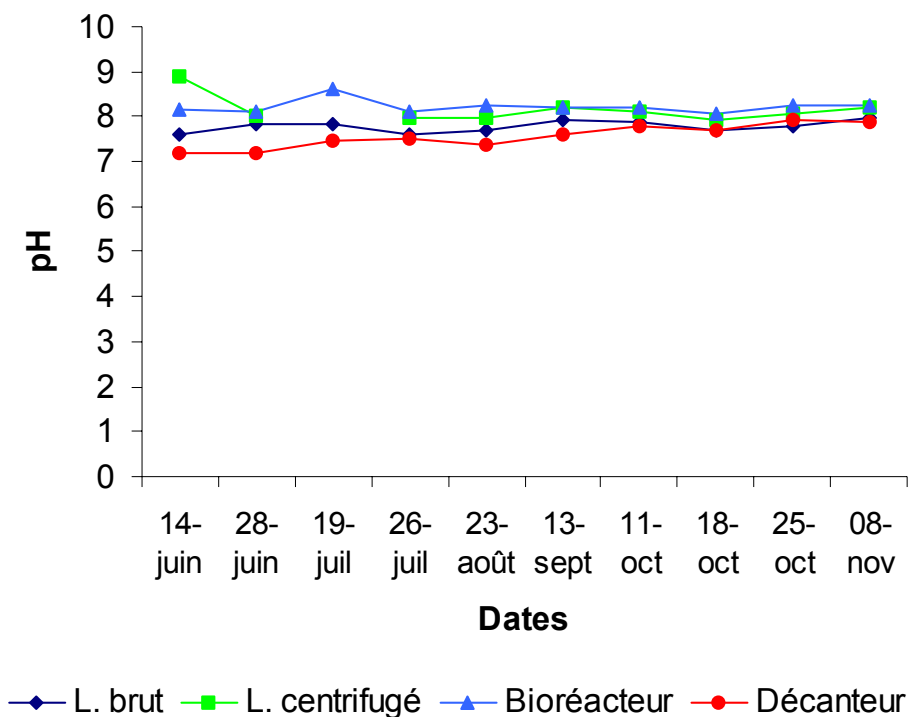


Figure 26. Valeurs de pH déterminées pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Valettec.

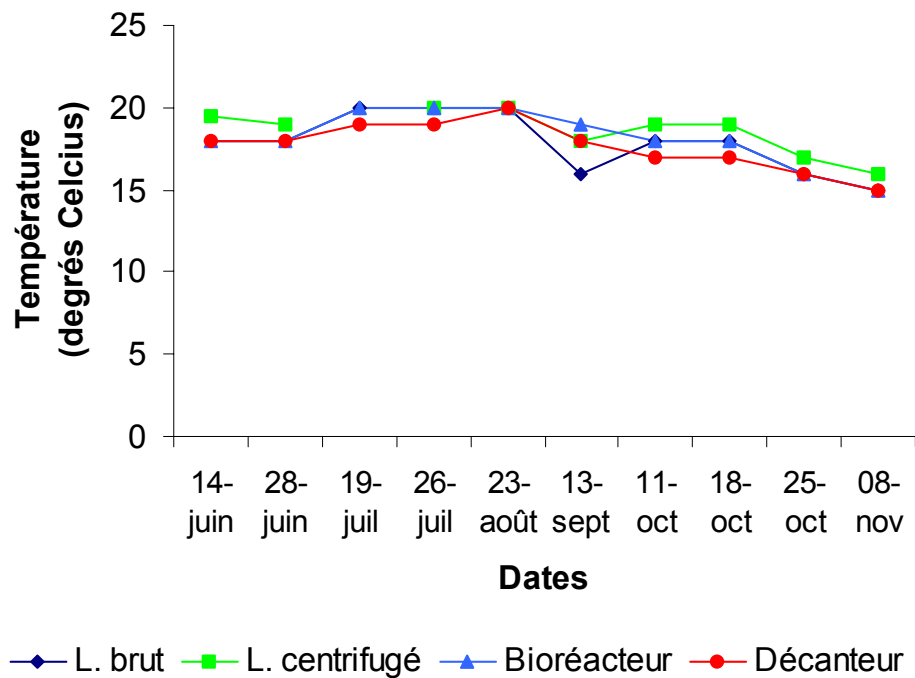


Figure 27. Valeurs de température déterminées pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Valettec.

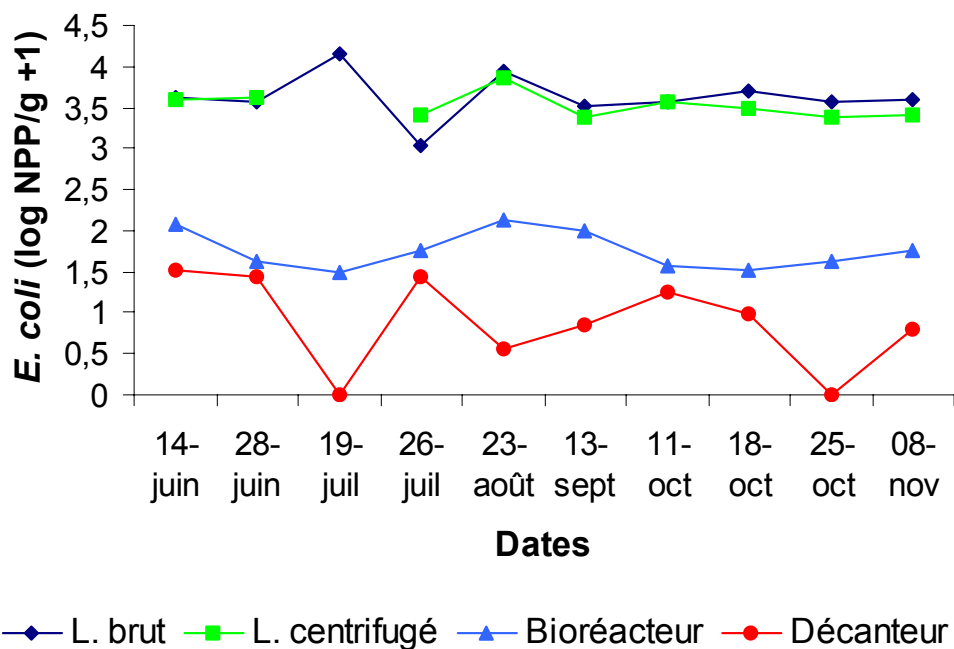


Figure 28. Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Valettec.

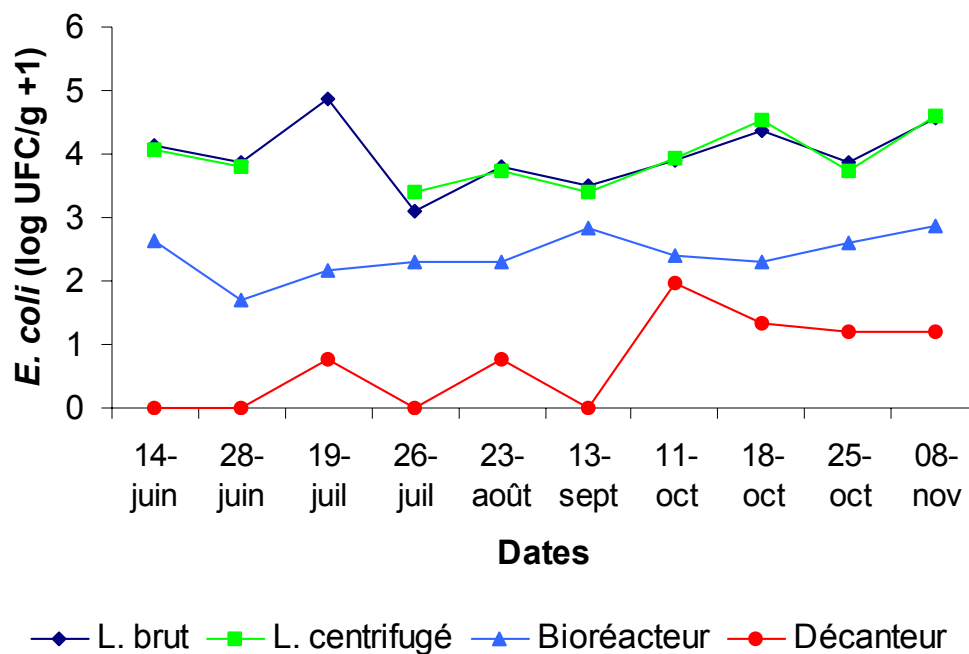


Figure 29. Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des Pétrifilms pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Valettec.

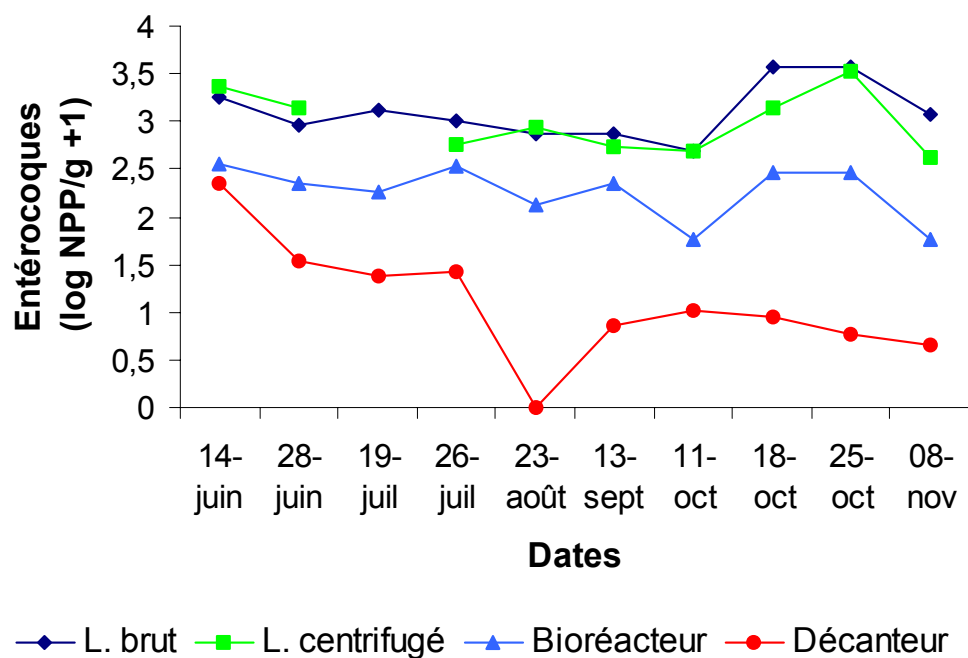


Figure 30. Populations d'entérocoques déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Valettec.

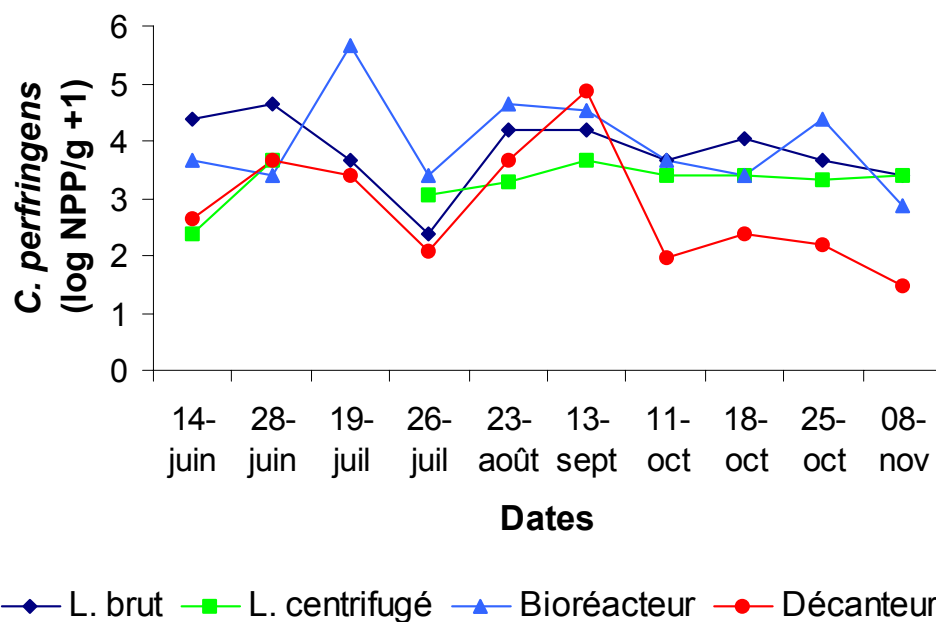


Figure 31. Populations de *Clostridium perfringens* déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Valettec.

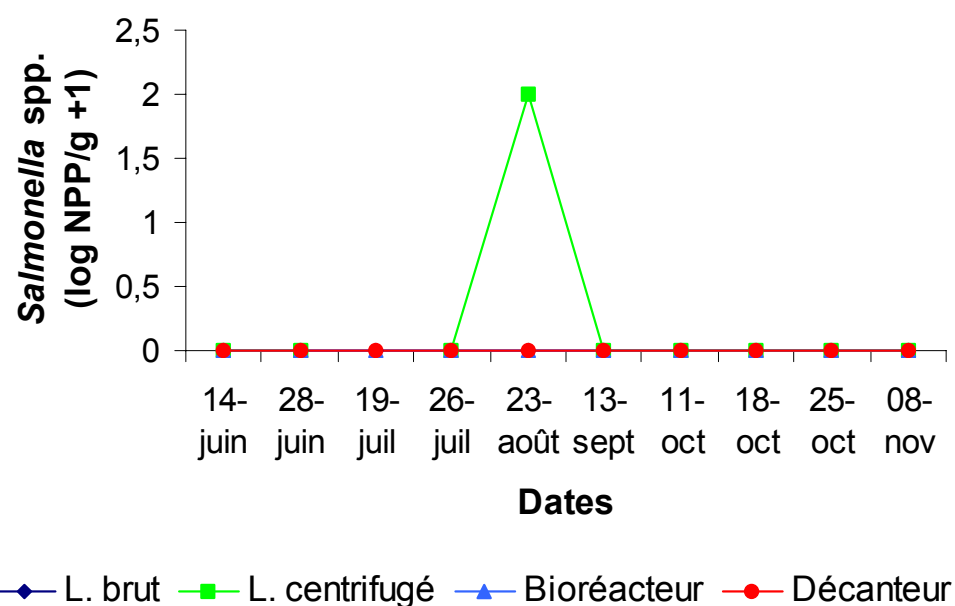


Figure 32. Populations de *Salmonella* spp. déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Valettec.

**Tableau 7. Résultats des tests de comparaisons entre les étapes du traitement du lisier de porc par le procédé Valettec.**

	Lisier brut	Phase liquide après séparation	Sortie du bioréacteur	Sortie du décanteur
<i>E. coli</i> (log NPP/g+1) <sup>1</sup>	3,6243 a	3,3180 a	1,6072 b	0,8296 c
<i>E. coli</i> (NPP/g+1) <sup>1</sup>	4 210	2 080	40	7
* Réduction (%)		50,59	99,83	99,83
<i>E. coli</i> (log UFC/ml+1) <sup>2</sup>	3,9927 a	3,7370 a	2,2774 b	0,6633 c
<i>E. coli</i> (UFC/ml+1) <sup>2</sup>	9 833	5 458	189	5
* Réduction (%)		44,49	98,08	99,95
Entérocoques (log NPP/g+1) <sup>3</sup>	3,0958 a	2,9189 a	2,1725 b	0,9202 c
Entérocoques (NPP/g+1) <sup>3</sup>	1 247	830	149	8
* Réduction (%)		33,44	88,05	99,36
<i>C. perfringens</i> (log NPP/g+1) <sup>4</sup>	3,8188 a	3,5177 a	3,7310 a	2,7663 b
<i>C. perfringens</i> (NPP/g+1) <sup>4</sup>	6 589	3 294	5 383	584
* Réduction (%)		50,00	18,30	91,14

Les résultats avec une lettre différente sont significativement différents (seuil de 5%).

<sup>1</sup> Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des tubes multiples.

<sup>2</sup> Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des pétrifilms.

<sup>3</sup> Populations d'entérocoques déterminées par la méthode des tubes multiples.

<sup>4</sup> Populations de *Clostridium perfringens* déterminées par la méthode des tubes multiples.

### 3. 6. Procédé Balcopure

Des fluctuations de pH ont été observées en cours de traitement. Le pH du lisier brut et de la phase liquide après la centrifugation était d'environ 8, alors qu'il atteignait environ 11 et 9 respectivement après le stripping et la deuxième séparation (figure 33). De légères différences de température ont été observées entre les étapes du

traitement, mais les variations étaient plutôt attribuables aux dates d'échantillonnage (figure 34).

Aucune différence significative n'a été observée entre les populations de *E. coli*, entérocoques et *Clostridium perfringens* trouvées dans le lisier brut comparativement à la phase liquide issue de la séparation par centrifugation (figures 33-38; tableau 8). Toutefois, les populations de *E. coli* et de *Clostridium perfringens* ont été réduites de plus de 99 % après le stripping comparativement au lisier brut. Cette étape a entraîné une réduction de plus de 96 % des populations d'entérocoques (tableau 8).

La réintroduction de lisier brut lors de la deuxième séparation a eu un impact défavorable sur la qualité microbienne du produit final. En effet, les populations de *E. coli*, entérocoques et *Clostridium perfringens* étaient significativement supérieures après la deuxième séparation comparativement à avant celle-ci (tableau 8). Par conséquent, la qualité microbiologique du produit final (après la deuxième séparation) se situait au-dessus de la limite maximale des recommandations émises dans la littérature (annexe 6).



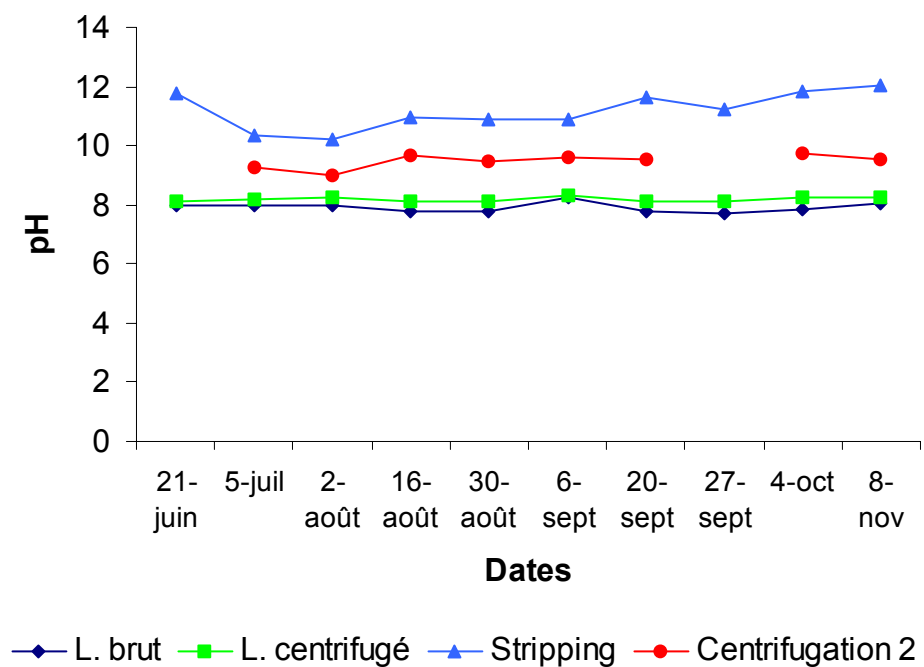


Figure 33. Valeurs de pH déterminées pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Balcopure.

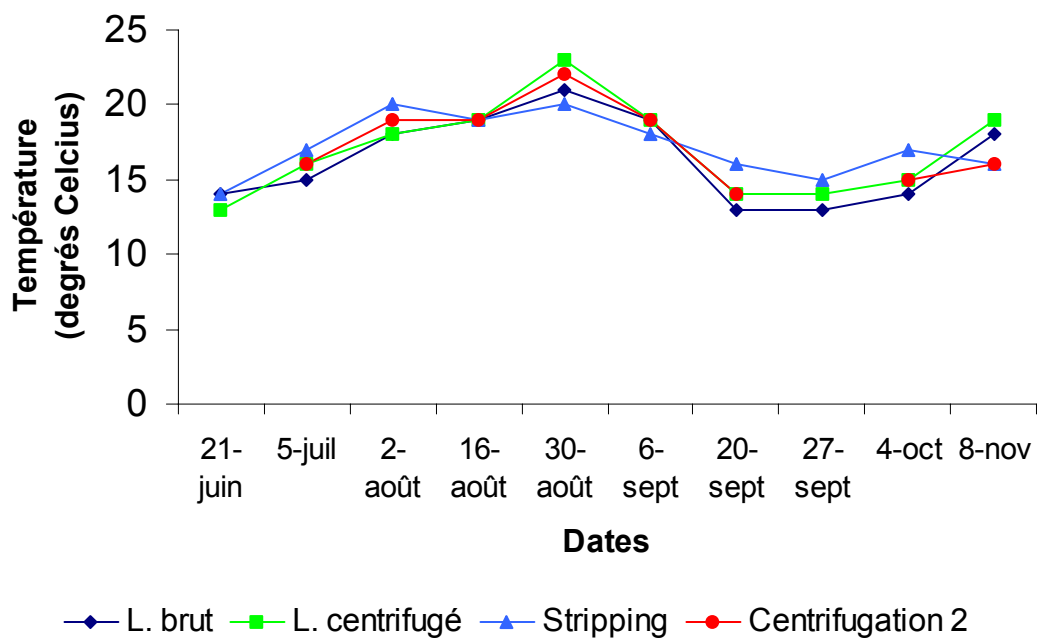


Figure 34. Valeurs de températures déterminées pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Balcopure.

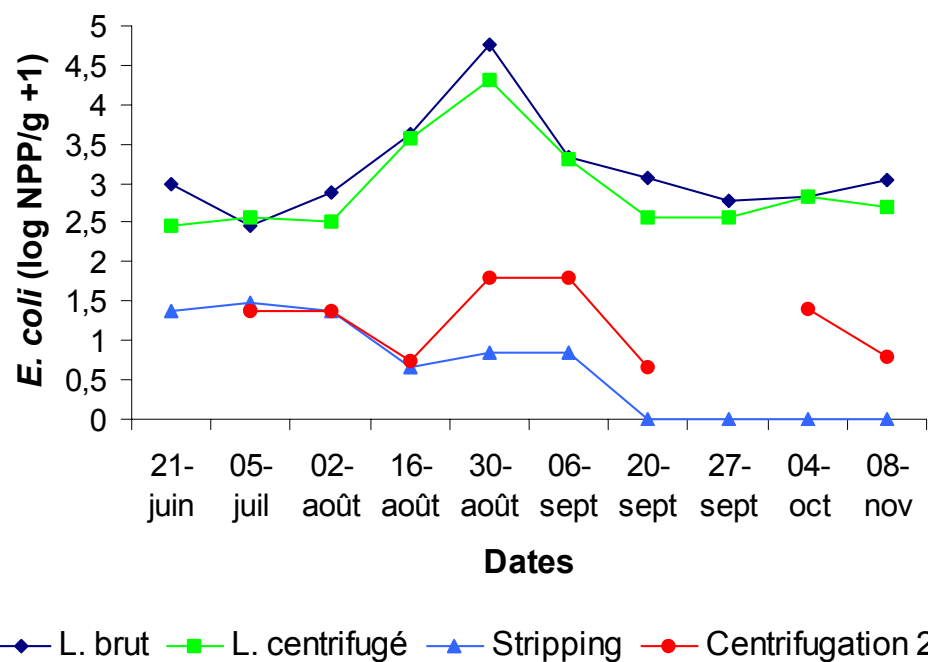


Figure 35. Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Balcopure.

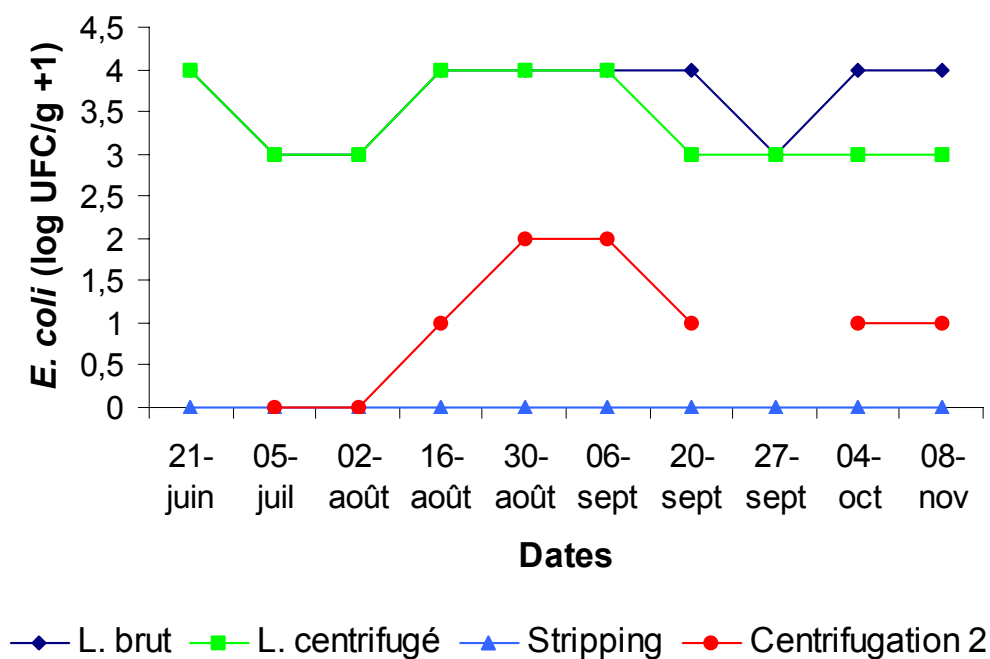


Figure 36. Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des Pétrifilms pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Balcopure.

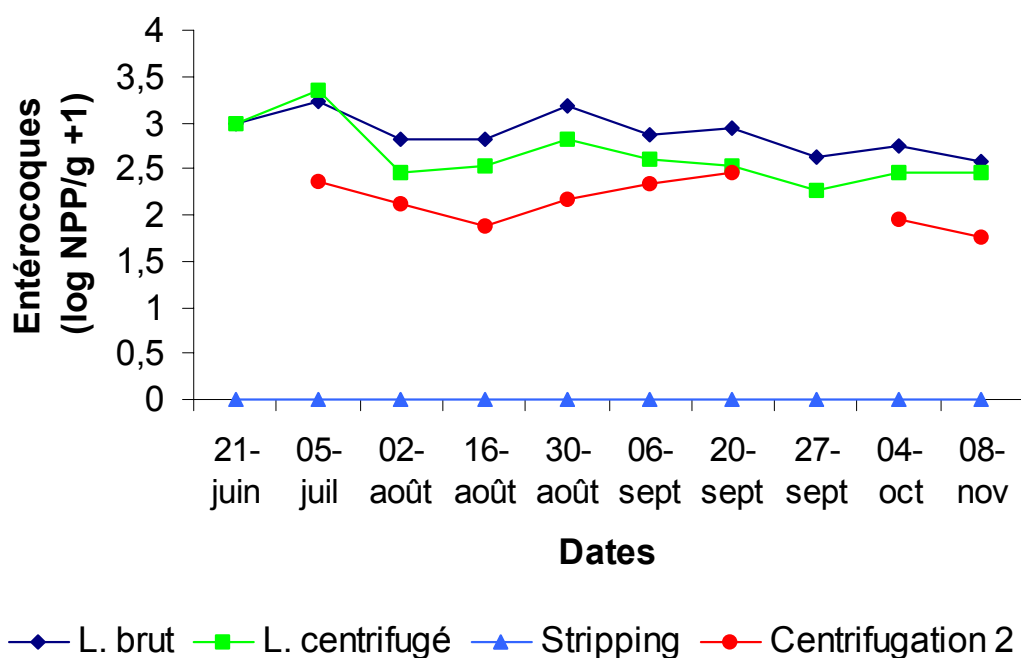


Figure 37. Populations d'entérocoques déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Balcopure.

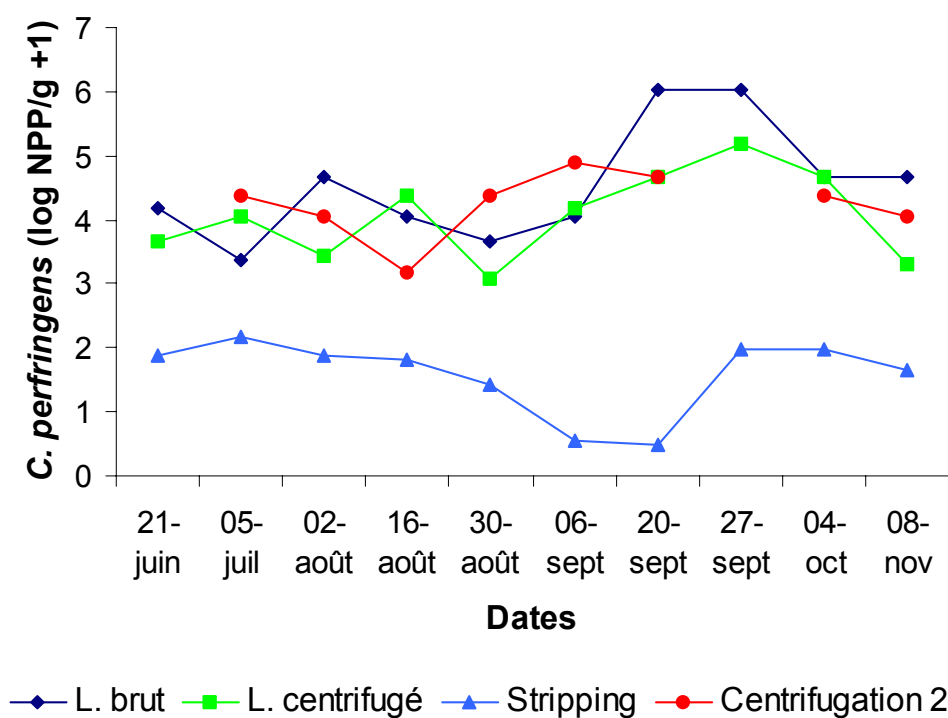


Figure 38. Populations de *Clostridium perfringens* déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Balcopure.

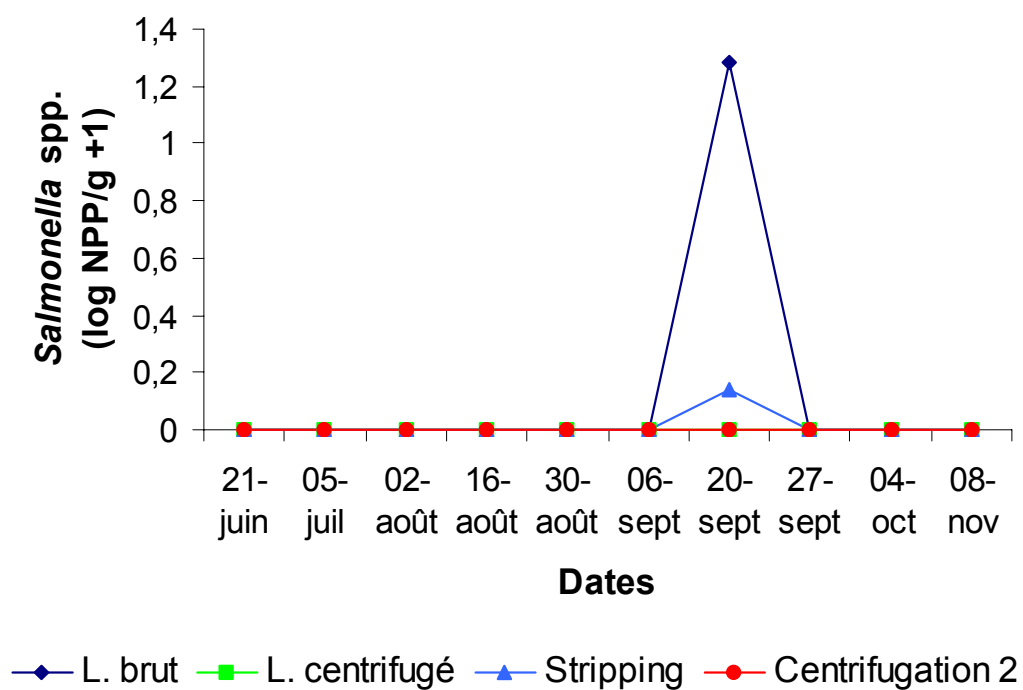


Figure 39. Populations de *Salmonella* spp. déterminées par la méthode des tubes multiples pour différentes étapes de traitement du lisier de porc par le procédé Balcopure.

**Tableau 8. Résultats des tests de comparaisons entre les étapes du traitement du lisier de porc par le procédé Balcopure.**

	Lisier brut	Phase liquide après séparation	Après Stripping	Phase liquide après 2 <sup>e</sup> séparation
<i>E. coli</i> (log NPP/g+1) <sup>1</sup>	3,1761 a	2,9362 a	0,4900 b	1,2666 c
<i>E. coli</i> (NPP/g+1) <sup>1</sup>	1 500	863	3	18
* Réduction (%)		42,47	99,80	98,80
<i>E. coli</i> (log UFC/ml+1) <sup>2</sup>	3,5553 a	3,4184 a	0,0000 b	1,1202 c
<i>E. coli</i> (UFC/ml+1) <sup>2</sup>	3 592	2 621	0,0000	13
* Réduction (%)		27,03	100	99,64
Entérocoques (log NPP/g+1) <sup>3</sup>	2,8781 a	2,6459 b	1,3802 c	2,1366 d
Entérocoques (NPP/g+1) <sup>3</sup>	755	442	24	137
* Réduction (%)		41,46	96,82	81,85
<i>C. perfringens</i> (log NPP/g+1) <sup>4</sup>	4,3725 a	4,0612 a	1,5463 b	4,2762 c
<i>C. perfringens</i> (NPP/g+1) <sup>4</sup>	23 578	11 513	35	18 889
* Réduction (%)		51,17	99,85	19,89

Les résultats avec une lettre différente sont significativement différents (seuil de 5%).

<sup>1</sup> Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des tubes multiples.

<sup>2</sup> Populations de *E. coli* déterminées par la méthode des pétrifilms.

<sup>3</sup> Populations d'entérocoques déterminées par la méthode des tubes multiples.

<sup>4</sup> Populations de *Clostridium perfringens* déterminées par la méthode des tubes multiples.

### 3. 7. Corrélations entre les paramètres microbiologiques et physico-chimiques

Les graphiques des concentrations en microorganismes en fonction des paramètres physico-chimiques n'ont pas révélé de tendance importante entre ces paramètres. Toutefois, l'analyse des corrélations basée sur les rangs des observations a dévoilé

quelques liens possibles entre certains paramètres microbiologiques et physico-chimiques.

Les corrélations les plus hautement statistiquement significatives ont été obtenues entre les populations de *Salmonella* spp. et le pH ainsi que les acides gras volatils. De plus, des corrélations ont été observées entre les populations de *E. coli* et les matières sèches.

#### 4. DISCUSSION GÉNÉRALE

Les résultats issus de cette étude ont démontré l'efficacité des procédés de traitement des lisiers à réduire les populations de microorganismes indicateurs et potentiellement pathogènes pour l'humain.

L'effet de la séparation sur la qualité microbiologique du liquide séparé (comparativement au lisier brut) fut variable. En effet, les populations de la plupart des microorganismes à l'étude étaient significativement inférieures dans la phase liquide après séparation (comparativement au lisier brut) pour les technologies BIOSORmd-lisier et Bio-fertile, alors qu'aucune différence significative n'a été observée pour les technologies Balcopure et Valettec. Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer ces différences :

- un effet d'entreposage de la phase liquide après la séparation, tel qu'appliqué pour la technologie Biofertile
- un effet du mode de séparation, la centrifugation appliquée dans les procédés Valettec et Balcopure n'ayant pas d'impact sur la distribution des microorganismes dans les phases liquide et solide
- un impact des propriétés physico-chimiques du lisier sur l'effet de la séparation, le lisier en France ayant une composition différente de celui au Québec. En effet, l'alimentation des animaux est très différente, vu que très peu de maïs est utilisé en France. De plus, le lisier en France est souvent issu de plusieurs stades physiologiques des porcs, étant donné que la plupart des éleveurs sont de type naisseur-finiisseur (Levasseur, 1998a). Effectivement, la quantité d'eau de lavage utilisée, ainsi que les modes d'alimentation et d'abreuvement variant selon l'âge des porcs, la dilution finale du lisier est influencée par le stade physiologique des animaux dont il est issu (Levasseur, 1998b).

Bien que l'impact de la séparation ait eu un impact différent selon les technologies, l'application de toutes les étapes de traitement incluses dans cette étude a entraîné une réduction très importante des populations microbiennes. Par exemple, les

populations de *E. coli* ont été réduites de plus de 99 % après toutes les étapes de traitement, sauf pour la technologie Balcopure en raison de la réintroduction de lisier brut à la dernière étape du traitement.

Le sous-produit liquide final possédait donc une qualité microbienne nettement améliorée. La disposition de celui-ci en milieu naturel dépend du milieu récepteur et ne sera que peu discutée dans ce rapport. En effet, il n'existe pas de normes concernant les critères microbiologiques à atteindre afin de permettre le rejet dans l'environnement d'effluents issus de lisier de porc traité ou encore d'eaux traitées. Ainsi, les seules normes existantes se rapportent à la qualité de l'eau une fois le rejet effectué, peu importe la source. Il faut donc interpréter chaque cas selon la qualité de l'effluent à rejeter et le milieu récepteur. L'annexe 7 présente les critères de coliformes fécaux à ne pas dépasser lors du rejet de l'effluent au cours d'eau, selon l'utilisation subséquente de l'eau. Il est à noter que les normes de coliformes fécaux peuvent être comparées à des résultats en *E. coli*, étant donné que ce type de bactéries est majoritaire au sein du groupe des coliformes fécaux, surtout lorsque la source de l'effluent à rejeter est d'origine animale. Parmi les autres avenues, la valorisation de la phase liquide par irrigation est la plus couramment envisagée. Actuellement, les recommandations émises dans la littérature concernant la qualité de l'eau d'irrigation varient généralement entre 100 et 1000 coliformes fécaux (ou *E. coli*) /100 mL (voir annexe 6). La qualité du sous-produit liquide final observée dans cette étude se trouve généralement dans cette gamme de valeurs (procédés BIOSORmd-lisier, Bio-fertile et Valettec) ou encore légèrement au-dessus (procédés Bio-Terre et Balcopure). Les recommandations actuelles ne tiennent cependant pas compte du délai laissé entre l'irrigation et la récolte. Il est en effet reconnu que l'augmentation de ce délai réduit le risque de contamination des récoltes. Des études futures permettront de préciser le risque de contamination des produits en fonction du mode de gestion de l'eau d'irrigation. Toutefois, il est généralement admis que le respect d'un délai d'un mois entre l'irrigation et la récolte réduit considérablement le risque. Ces études ont toutefois été menées généralement sur des microorganismes d'origine humaine. Par exemple, il a été démontré que l'irrigation pendant une



période limitée (jusqu'à la floraison) dans la culture du cornichon contribue à réduire significativement le risque de contamination des produits (Sadovski, 1978). Par ailleurs, le risque de contamination des fruits et légumes par les parasites *Ascaris* et *Entamoeba histolytica* est limité lorsque l'irrigation est réalisée plus d'un mois avant la récolte (Beuchat, 1997). Quelques études ont aussi documenté la survie potentielle du poliovirus sur les fruits et légumes suite à une irrigation. Elle a été estimée à 36 jours sur la laitue et le radis (Larkin et coll., 1976), 23 jours sur le radis (Tierney et coll., 1977) et 8 jours dans la culture du concombre (Sadovski et coll., 1978). Il est intéressant de noter que les parasites et les virus ne peuvent pas se multiplier dans l'environnement et sur les récoltes et ce, peu importe la température.

Bien que cette étude ne visait pas à comparer les technologies de traitement entre elles, elle a permis de préciser les paramètres à considérer pour mettre en place un protocole standardisé d'évaluation de la qualité microbiologique du sous-produit liquide issu du traitement. L'élaboration d'un tel protocole nécessite l'utilisation de méthodes d'analyse qui peuvent être appliquées à tous les types d'échantillons dont les propriétés physico-chimiques peuvent différer selon la provenance du lisier et le type de traitement appliqué.

Dans le cadre de cette étude, trois types d'analyses ont été faites :

- les tubes multiples (*E. coli*, *Salmonella* spp., entérocoques et *Clostridium perfringens*)
- la filtration sur membrane (entérocoques et *Clostridium perfringens*)
- la mise en culture sur milieu gélosé prêt à l'emploi (*E. coli*)

La détermination des populations de *E. coli* a été faite par deux méthodes, soient les tubes multiples et les pétrifilms. La méthode des pétrifilms a l'avantage d'être peu coûteuse et peu laborieuse. Comme elle nécessite peu d'équipements, il peut être envisageable de l'utiliser aux sites de traitement pour un suivi sur place. Certaines mises en garde doivent toutefois être faites. D'abord, cette méthode s'applique mal aux échantillons présentant de faibles concentrations de microorganismes combiné à

un contenu élevé de matières en suspension. En effet, le dénombrement des colonies sur les pétrifilms est alors difficile à cause de la présence de débris puisque l'échantillon n'est pas préalablement dilué. Ce phénomène a été observé dans le cas du lisier traité par la digestion anaérobie. Par ailleurs, la sensibilité de la méthode des pétrifilms peut être moindre que celle des tubes multiples lorsque les populations de microorganismes sont faibles (moins de 100 UFC/mL).

L'avantage reconnu de la filtration sur membrane est une augmentation de la sensibilité en raison du grand volume d'échantillon liquide qui peut être filtré. Les recommandations à l'égard de la qualité de l'eau (consommation, baignade, irrigation) sont d'ailleurs généralement basées sur cette méthode d'analyse. La filtration sur membrane n'est toutefois applicable qu'aux échantillons liquides présentant peu de matières en suspension. Dans le cadre de cette étude, plusieurs échantillons présentaient beaucoup trop de matières en suspension pour appliquer la filtration sur membrane pour le dénombrement des entérocoques. C'était le cas, par exemple, du lisier traité par digestion anaérobie. Par contre, la méthode des tubes multiples, bien que moins sensible que la filtration sur membrane, s'est avérée applicable à tous les types d'échantillons. Elle est cependant plus coûteuse et plutôt laborieuse. De plus, les substrats à l'étude ne possédaient pas toujours les propriétés requises pour l'analyse de *Clostridium perfringens* par filtration sur membrane tel que décrit par Bisson et Cabelli (1979). Par contre, la méthode des tubes multiples fut efficace.

Il en ressort donc qu'un protocole standardisé d'évaluation de la qualité microbiologique du sous-produit liquide devrait inclure des méthodes d'analyse par tubes multiples afin de pouvoir être applicables à tous les types de lisier et de sous-produits issus des différentes technologies de traitement.

L'élaboration d'un protocole standardisé inclut aussi le choix judicieux des paramètres à mesurer dans l'effluent. *E. coli* est reconnu comme étant un indicateur de contamination fécale de choix, efficace pour prédire la présence potentielle de

microorganismes pathogènes tels que *Salmonella* spp. Il peut toutefois être utile d'ajouter l'analyse de *Salmonella* spp. pour plusieurs raisons. D'abord, certains élevages peuvent présenter une forte prévalence de cette bactérie, ce qui ne fut toutefois pas le cas dans le cadre de cette étude. Par ailleurs, certains isolats de *Salmonella* spp. ont développé une multirésistance aux antibiotiques, telle que *Salmonella* Typhimurium DT104. Il a été démontré que les souches bactériennes résistantes aux antibiotiques présentent souvent une persistance accrue lors du traitement du lisier (Abdul et Lloyd, 1985).

Quant aux entérocoques et aux *Clostridium perfringens*, ces microorganismes indicateurs (plus persistants que *E. coli*) peuvent renseigner sur la présence possible de virus et de parasites entériques. Les résultats issus de cette étude ont démontré que ces microorganismes indicateurs peuvent être présents en grande concentration et ce, même à la fin du traitement, ce qui traduit la présence possible (mais non certaine) de virus et de parasites. La pertinence de déterminer les populations d'entérocoques et *C. perfringens* réside dans l'utilisation qui sera faite des effluents. Peu de virus porcins sont transmissibles par la voie fécale-orale, mais le virus de l'hépatite E fait l'objet de préoccupations grandissantes. Pour ce qui est des parasites, *Cryptosporidium* et *Giardia* sont les plus préoccupants. Ce projet a permis de démontrer que *Cryptosporidium* et *Giardia* peuvent être présents dans l'effluent traité. Il serait donc utile, dans le cadre de recherches futures, de préciser le risque de contamination des récoltes par des microorganismes spécifiques tels que l'hépatite E, *Cryptosporidium* et *Giardia* suite à une irrigation avec l'effluent liquide issu du traitement des lisiers.

## **5. DIFFUSION DES RÉSULTATS**

Une rencontre a eu lieu au CEMAGREF de Rennes en mai 2005 afin de discuter du projet en cours. Les participants étaient : Caroline Côté, Stéphane Godbout, Kathie Roseberry et Nora Aktouche de l'IRDA. Les participants du CEMAGREF étaient :

José Martinez, Fabrice Béline, Anne-Marie Pourcher, Pascal Peu, Armelle GAC et Marie-Line Daumer. Un rapport de cette rencontre est disponible.

De plus, une présentation des résultats a été faite par Anne-Marie Pourcher dans le cadre d'un congrès européen de l'organisation RAMIRAN dont voici la référence :

Pourcher, A. M., N. Aktouche, C. Côté, P. Rousseau, S. Godbout, and J. Martinez. 2006. Behaviour of enteric micro-organisms in canadian and french swine manure treatments. 12th RAMIRAN international conference. Aarhus, 11-13 septembre 2006.

Par ailleurs, Caroline Côté a participé à un workshop international dont le thème était l'utilisation des microorganismes indicateurs pour caractériser l'impact des procédés de traitement. Un rapport préliminaire de cette rencontre est disponible.

La production d'au moins 3 articles scientifiques est aussi prévue, ainsi qu'un séminaire organisé par l'IRDA.

## **BIBLIOGRAPHIE**

Abdul, P and D. Lloyd. 1985. The survival of antibiotic resistant and sensitive *Escherichia coli* strains during anaerobic digestion. Appl. Microbiol. Biotechnol. 22 : 373-377.

Abdul, P., Lloyd, D. 1985. The survival of antibiotic resistant and sensitive *Escherichia coli* strains during anaerobic digestion. Appl. Microbiol. Biotechnol. 22 : 373-377.

Alberta Environment, Environmental Service. 1999. Surface water quality guidelines for use in Alberta. Environmental Sciences Division and Natural Resource Service, Water Management Division. Publication no. T/483. ISBN 0-7785-0897-8.

Bicudo, J.R., Svoboda I.F. 1995. Effects of intermittent-cycle extended aeration treatment on the fate of nutrients, metals and bacterial indicators in pig slurry. *Biores. Technol.* 54 : 63-72.

Blumenthal, U.J., Mara, D.D., Peasey, A., Ruiz-Palacios, G., Stott, R. 2000. Guidelines for the microbiological quality of treated wastewater used in agriculture : recommendations for revising WHO guidelines. *Bull. World Health Org.* 78 : 1104-1116.

British Columbia, Ministry of Water, Land and Air Protection. 1988. Water quality criteria for microbiological indicators : overview report. British Columbia, Ministry of Water, Land and Air Protection, Resource quality Section, Water management branch, Ministry of Environment and Parks. March 8, 1988. Disponible à : <http://wlapwww.gov.bc.ca/wat/wq/Bcguidelines/microbiology.html>

Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999. Canadian water quality guidelines for the protection of agricultural water uses, p. 2 *dans* Canadian environmental quality guidelines. CCME publications, Winnipeg, Manitoba, Canada.

Ginnivan, M.J., Woods J.L., O'Callaghan, J.R. 1981. Thermophilic aerobic treatment of pig slurry. *J. Agric. Engng. Res.* 26 : 455-466.

Heinonen-Tanski, H., Niskanen, E.M., Salmela, P., Lankj, E. 1998. *Salmonella* in animal slurry can be destroyed by aeration at low temperature. *J. Appl. Microbiol.* 85: 277-281.

Jones, P. W. 1976. The effect of temperature, solids content and pH on the survival of salmonellas in cattle slurry. *Br. Vet. J.* 132 : 284-293.

Kearney, T.E., Larkin, M.J., Frost, J.P., Levett, P.N. 1993. Survival of pathogenic bacteria during mesophilic anaerobic digestion of animal waste. J. Appl. Bacteriol. 75: 215-219.

Kearny, T. E., Larkin, M.J., Levett, P.N. 1993. The effect of slurry storage and anaerobic digestion on survival of pathogenic bacteria. J. Appl. Bacteriol. 74 : 86-93.

Kumar, R., Gupta, M.K., Kanwar, S.S. 1999. Fate of bacterial pathogens in cattle dung slurry subjected to anaerobic digestion. World J. Microbiol. Biotechnol. 15 : 335-338.

Letellier, A., Messier, S., Quessy, S. 1999. Prevalence of *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in finishing swine at canadian abattoirs. J. Food Prot. 62 (1): 22-25.

Levasseur, P., 1998a. Composition et volume de lisier produit par le porc- Données bibliographiques. Techni Porc 21 (4): 17-24.

Levasseur, P., 1998b. Facteurs de variation du niveau des rejets et du volume de lisier produit par le porc. Techni Porc 21 (5): 19-29.

Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2006. Critères de qualité de l'eau de surface au Québec. 417 p. Disponible à: [http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/criteres\\_eau/index.htm](http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/criteres_eau/index.htm)

Munch, B., Larsen, H.E., Aalbaek, B. 1987. Experimental studies on the survival of pathogenic and indicator bacteria in aerated and non-aerated cattle and pig slurry. Biol. Wastes. 22: 49-65.

Olson, M. E., Thorlakson, C.L., Deselliers, L., Morck, D.W., McAllister, T.A. 1997. Vet. Parasitol. 68: 375-381.

Olson, J.E., Larsen, H.E. 1987. Bacterial decimation times in anaerobic digestions of animals slurries. *Biol. Wastes*. 21: 153-168.

Olson, J.E. 1988. Studies on the reduction of pathogenic and indicator bacteria in liquid pig manure treated by sedimentation and anaerobic filter digestion for methane generation. *Biol. Wastes*. 24: 17-26.

Payment, P., Hartemann, P. 1998. *Rev. des Sciences de l'Eau*, 11, 199-210.

Pilon, J., Higgins, R., Quessy, S. 2000. Epidemiological study of *Yersinia enterocolitica* in swine herds in Quebec. *Can. Vet. J.* 41: 383-387.

Tappouni, Y.A. 1984. The fate of *Salmonella* in anaerobic digestion. Thèse de doctorat, University college, Cardiff, UK.,

Toranzos, G.A., McFeters, G.A., Burrego, J.J. 2002. *Man. Environ. Microbiol.*Ch. 18, p. 206.

Rice, E.W., Fox, K.R., Miltner, R.J., Lytle, D.A., Johnson, C.H. 1996. *J. Amer. Water Works Ass.* 88: 122-130.

Steele, M., Odumeru, J. 2004. Irrigation water as source of foodborne pathogens on fruit and vegetables. *J. Food Prot.* 67(12) : 2839-2849.

United States Environmental Protection Agency. 1973. Water quality criteria. Ecological Research Series. USEPA, Washington, D.C. EPA R3-73-033.

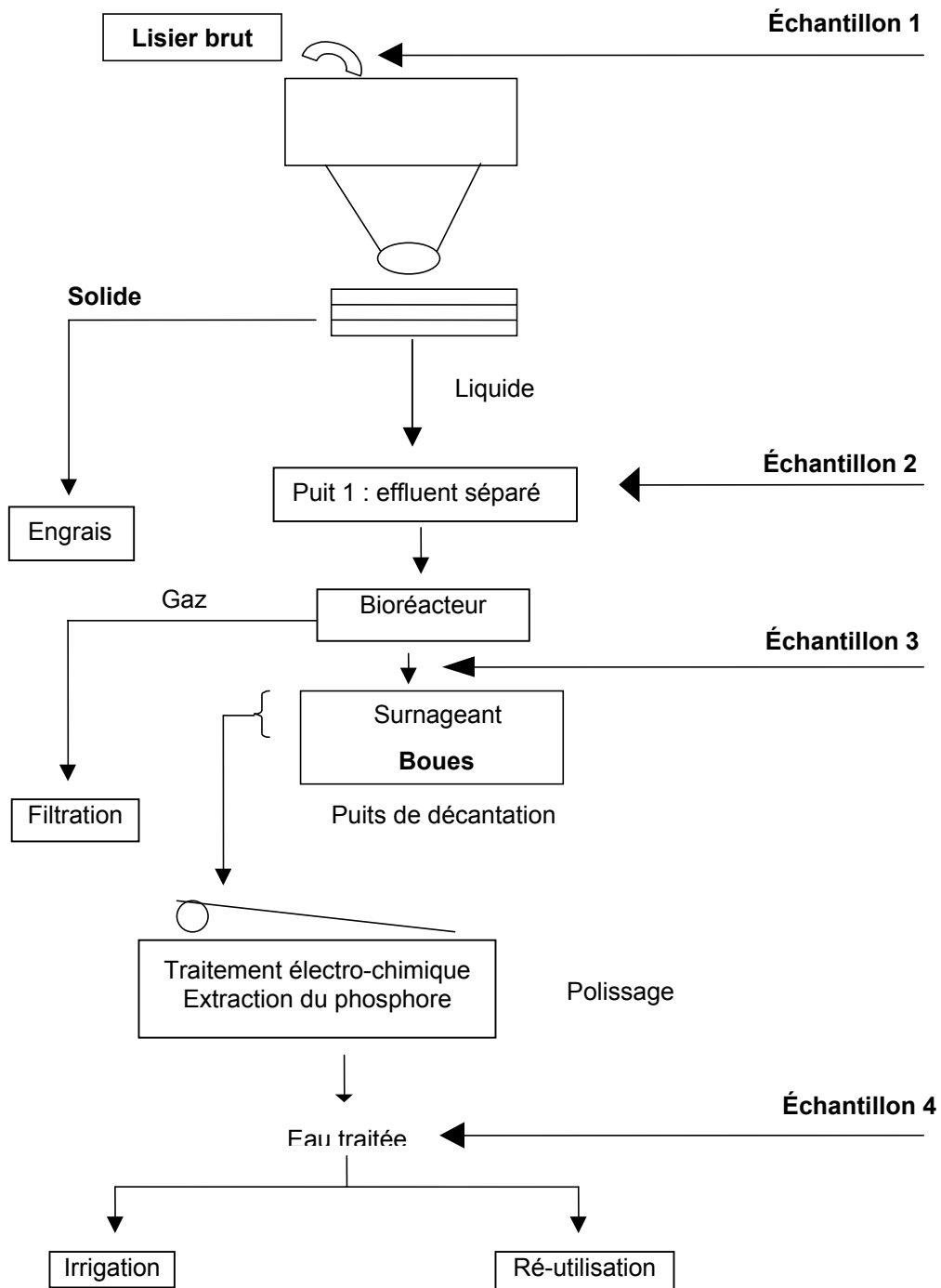
Watabe, M., Rao, J.R., Stewart, T.A., Xu, J., Millar, B.C., Xiao, L., Lowery, C.J., Dooley J.S.G., Moore, J.E. 2003. *Lett. Appl. Microbiol.* 36: 208-212.

Williamson, D.A. 2001. Manitoba water quality objectives, standards, and guidelines. Technical draft. 1 February 2001. Manitoba Conservation, Water Quality Management Section. Disponible à [http://www.gov.mb.ca/conservation/watres/mwqsog\\_2002.pdf](http://www.gov.mb.ca/conservation/watres/mwqsog_2002.pdf)



## ANNEXE 1

Représentation graphique des points d'échantillonnage ciblés dans le cadre de l'étude pour la technologie Biofertile-F.

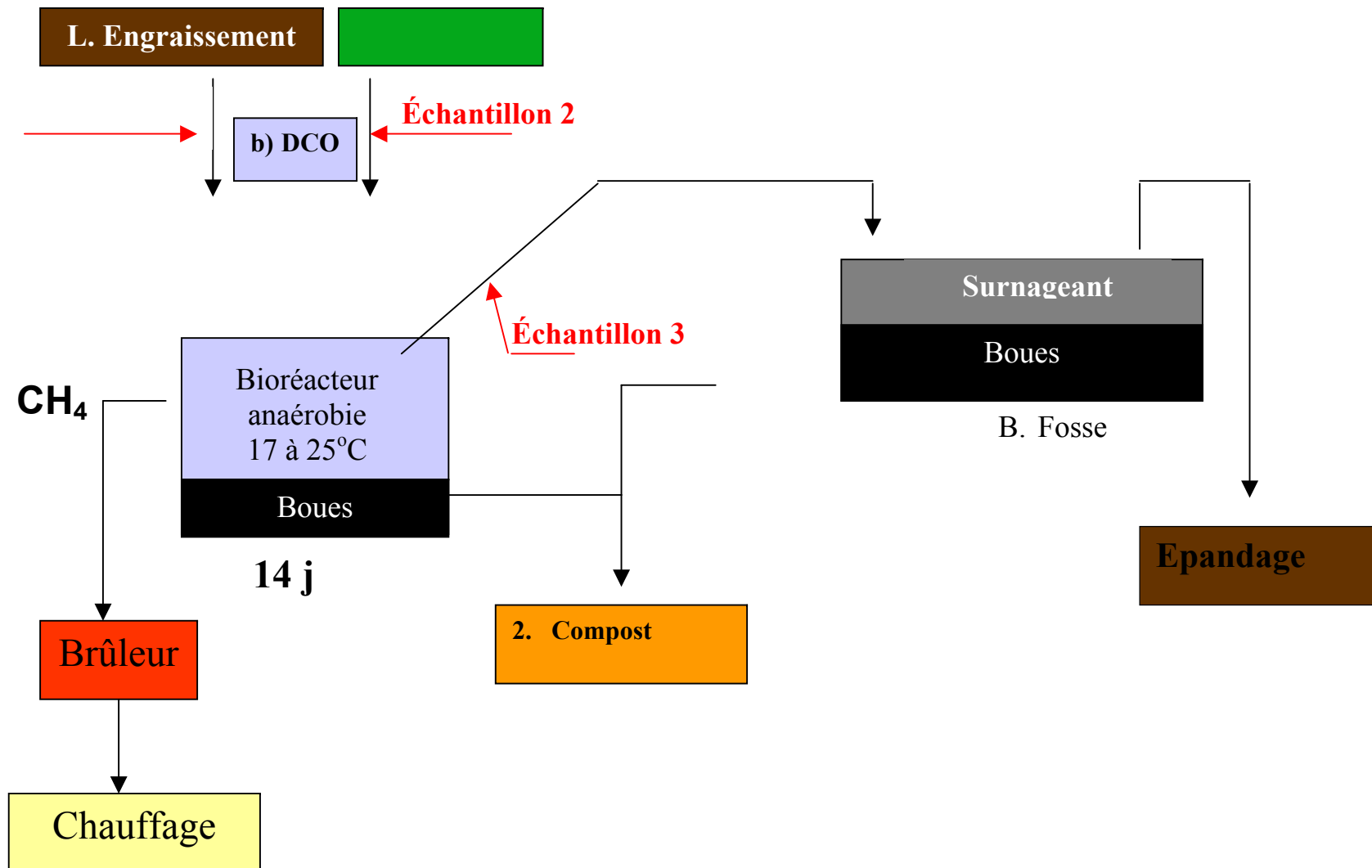


**Représentation graphique des points d'échantillonnage ciblés dans le cadre de l'étude pour la technologie BIOSORmd-lisier.**



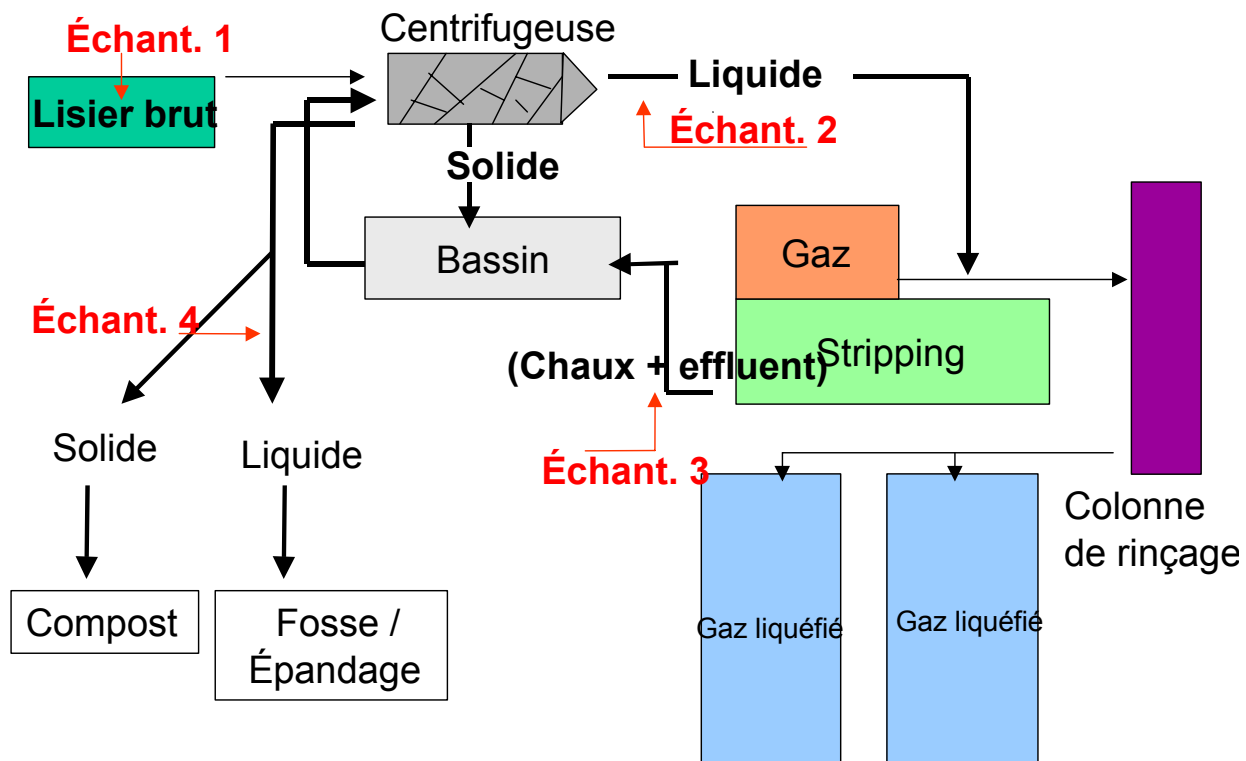
## ANNEXE 3

**Représentation graphique des points d'échantillonnage ciblés dans le cadre de l'étude pour la technologie Bio-terre.**



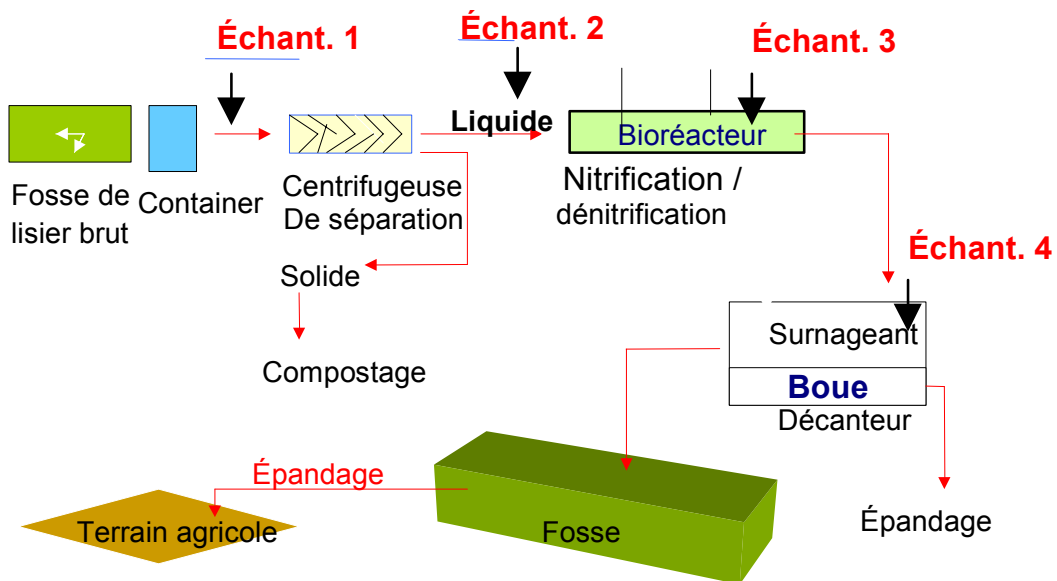
## ANNEXE 4

Représentation graphique des points d'échantillonnage ciblés dans le cadre de l'étude pour la technologie Balcopure.



## ANNEXE 5

Représentation graphique des points d'échantillonnage ciblés dans le cadre de l'étude pour la technologie Valetec.



## ANNEXE 6

### Recommandations émises dans la littérature concernant la qualité de l'eau utilisée pour l'irrigation

Critère ( / 100 ml d'eau)	Type d'eau	Référence
< 1 000 coliformes totaux < 100 coliformes fécaux	Tous	Conseil canadien des ministres de l'environnement, 1999
< 1 000 coliformes totaux <sup>1</sup> < 100 coliformes fécaux <sup>1</sup>	Eau de surface	Alberta Environment, Environmental Service, 1999
<u>Cultures consommées crues</u> < 200 coliformes fécaux < 77 <i>E. coli</i> < 20 streptocoques fécaux  <u>En général</u> < 1 000 coliformes fécaux < 1 000 <i>E. coli</i> < 250 streptocoques fécaux	Tous	British Columbia, Ministry of Water, Land and Air Protection, 1988
< 200 coliformes fécaux < 200 <i>E. coli</i>	Tous	Williamson, D. A. , Manitoba Conservation, Water Quality Management Section, 2001
<u>Cultures consommées crues</u> < 1 000 coliformes totaux < 100 coliformes fécaux	Eau de surface	Saskatchewan Environment, 1997

< 1000 coliformes fécaux	Eau de surface	U. S. Environmental Protection Agency, 1973
<u>Cultures consommées crues</u> O coliformes fécaux  <u>Cultures consommées cuites</u> < 200 coliformes fécaux	Eaux usées	U. S. Environmental Protection Agency, 1992
<u>Cultures consommées crues</u> < 1000 coliformes fécaux < 1 œuf de nématode/ L  <u>Cultures consommées cuites</u> < 100 000 coliformes fécaux	Eaux usées	Blumenthal <i>et al.</i> , 2000

<sup>1</sup> La moyenne géométrique d'au moins 5 échantillons prélevés sur au moins 30 jours ne devrait pas excéder 1 000 coliformes totaux ou 200 coliformes fécaux par 100 mL d'eau. Pas plus de 20 % des échantillons examinés ne devraient excéder ces critères et ce, peu importe le mois du prélèvement. Enfin, aucun échantillon ne devrait excéder 2 400 coliformes fécaux par 100 mL d'eau.

## ANNEXE 7

### Critères de qualité de l'eau de surface à ne pas dépasser suite au rejet

Critère (/ 100 mL d'eau)	Activité visée
1000	Prévention de la contamination (eau et organismes aquatiques)
200	Activités de contact primaire* (baignade et planche à voile)
1000	Activités de contact secondaire (pêche sportive et canotage)

(adapté de MDDEP, 2006)

\* Pour la surveillance des plages publiques, la moyenne géométrique d'un minimum de 6 échantillons prélevés lors d'un même échantillonnage ne doit pas excéder 200 UFC/ 100 mL et pas plus de 10 % des échantillons de doit excéder 400 UFC/ 100 mL. Pour les plages où moins de 10 échantillons sont prélevés, pas plus d'un échantillon de doit excéder 400 UFC/ 100 mL.



