

Maîtrise du risque sanitaire dans une unité de compostage de sous-produits animaux - Mise en application du règlement CE 1774/2002 modifié

SANDRIN GABRIEL-ROBEZ E. (1), BRUGERE H. (2)

(1) BIOGRAM Etudes et Expertises en Environnement, 3 rue Georges Picot, 31400 Toulouse

(2) UMR INRA/ENVT 1225, 23 chemin des Capelles, BP 87614, 31076 Toulouse cedex 03

RESUME – Le règlement européen CE/1774/2002 modifié établissant les règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine définit de nouvelles exigences sanitaires et techniques régissant les usines de compostage traitant des sous-produits animaux, qui remettent en cause l'utilisation des plates-formes de compostage existantes sur le territoire français. L'objectif principal de cette étude a été d'une part, de vérifier que l'exploitation de plates-formes de compostage « rustiques » (andains non couverts avec retournement) pour les sous-produits animaux pouvait être réalisée conformément aux nouvelles exigences sanitaires européennes et, d'autre part, proposer et valider les critères techniques d'exploitation et de contrôle pour garantir « l'hygiénisation » du produit fini, le compost : 1) choix et validation d'un système de contrôle de la température en temps réel : le Thermo-bouton ® ; 2) définition des conditions d'exploitation optimales ; 3) validation de « l'hygiénisation » du procédé de compostage par le choix de traceurs microbiologiques pertinents. Deux andains ont été réalisés, composés de matières stercoraires (75 %) et d'écorces ou d'onglons (25 %), avec quatre retournements à une semaine d'intervalle, puis un retournement à quinze jours d'intervalle et un retournement à un mois d'intervalle (soit au total deux mois et demi). Dix thermo-boutons ont été répartis dans chaque andain, et des prélèvements réalisés lors de chaque retournement sur lesquels les analyses microbiologiques suivantes ont été effectuées : 1) agents indicateurs : dénombrements des entérobactéries dont *Escherichia coli*, entérocoques et *Clostridium perfringens* ; 2) agents pathogènes : recherche des salmonelles, de *Listeria monocytogenes* et des œufs d'helminthes viables.

L'analyse des enregistrements de température a permis de valider le système Thermo-bouton ® pour le contrôle en temps réel et l'enregistrement en continu de la température. Les résultats de l'étude ont montré qu'il était possible de satisfaire aux objectifs sanitaires du règlement européen CE 1774/2002 modifié en terme de contrôle du procédé (*E. coli* et *Enterococcaceae*) et aux exigences sanitaires de ce règlement et celles de la norme NFU 44-095 (*Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes* et œufs d'helminthes viables). Au delà de la validation des critères microbiologiques et des caractéristiques d'hygiénisation du procédé de compostage, l'étude propose qu'un protocole technique de contrôle sanitaire du fonctionnement des plates-formes de compostage en France soit réalisé sous la forme d'un guide de bonnes pratiques d'hygiène, selon le principe de la démarche HACCP (Hazard Analysis – Critical Control Point ou Analyse des dangers – Points critiques pour leur maîtrise), ce qui pourrait permettre leur agrément par les pouvoirs publics.

Control of health risk in a unit of animal by-product composting – Modified Regulation CE 1774/2002 application

SANDRIN GABRIEL-ROBEZ E. (1), BRUGERE H. (2)

(1) BIOGRAM Etudes et Expertises en Environnement, 3 rue Georges Picot, 31 400 TOULOUSE

SUMMARY – Modified European regulation CE/1774/2002 laying down the medical rules applicable to the animal by-products not intended for human consumption defines new safety requirements and techniques governing the factories of animal by-product composting (articles 15 and 26, Appendix V - Chapter IV, Appendix VI - Chapter II), which call into question the use of the existing platforms of composting on the French territory. The main objective of this study was, on the one hand, to check that the exploitation of “rustic” platforms of composting (non covered heaps with reversal) for the animal by-products can be performed in accordance with the new European health requirements, and, on the other hand, to propose and validate the technical criteria of exploitation and control in order to guarantee safety of the finished product: i. choice and validation of a temperature control system in real time: Thermo-bouton ®; ii. definition of the optimum operating conditions ; iii. validation of the hygienic effect of the composting process by the choice of relevant microbiological tracers. Two heaps were carried out, composed of stercoraceous matters (75%) and barks or claws (25%), with 4 reversals every one week, then 1 reversal 15 days later and a reversal 1 month later (a total of 2.5 months). Ten thermo-buttons were distributed in each heap, and samples taken at the time of each reversal on which the following microbiological analyses were carried out: i. indicating agents: quantification of *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Enterococaceae* and *Clostridium perfringens*; ii. pathogenic agents: *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*; viable nematode eggs.

The analysis of the temperature recordings makes it possible to validate the Thermo-bouton ® system for real time control and continuous temperature recording. This study shows that it was possible to satisfy safety objectives of the modified Regulation EC 1774/2002 in terms of control of the process (*Escherichia coli* and *Enterococaceae*) and the safety objectives of this regulation and those of the French standard NFU 44-095 in terms of pathogenic agents (*Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes* and viable nematode eggs). Beyond the validation of the microbiological criteria and characteristics of hygiene of the composting process, this study proposes that a safety control technical protocol of the composting platforms operation in France has to be defined in the shape of a guide for good practices of hygiene, according to the principle of HACCP methodology (Hazard Analysis - Critical Control Point), which could allow their approval by the Authorities.

INTRODUCTION

Le règlement européen CE 1774/2002 modifié établissant les règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine, définit de

nouvelles exigences sanitaires et techniques régissant les usines de compostage traitant des sous-produits animaux (articles 15 et 26, Annexe V – Chapitre IV, Annexe VI – Chapitre II), qui remettent en cause l'utilisation des plates-

formes de compostage existantes, pour lesquelles l'Etat français a demandé et obtenu des délais successifs de mise en conformité, et ce jusqu'au 30 juin 2008.

Plus récemment, le règlement CE 208/2006 du 7 février 2006, modifie les annexes VI et VIII du règlement CE n° 1774/2002, qui concernent les normes de transformation applicables aux usines de production de biogaz et de compostage et les exigences applicables au lisier, avec en particulier les modifications du chapitre II de l'annexe VI autorisant l'agrément d'autres paramètres de transformation, et au point D 15, la modification et la différenciation des indicateurs microbiologiques recherchés dans le produit fini en deux catégories (tableau 1).

Tableau 1 : Critères microbiologiques - Règlement CE 208/2006

Catégories de germes		Valeurs limites dans le compost
Germes indicateurs de traitement	<i>Escherichia coli</i>	5 échantillons < 5 000 / g dans 1 échantillon sur 5
	<i>Enterococaceae</i>	et ≤ 1 000 / g dans les 4 autres
Germes pathogènes	Salmonelles	Absence dans 5 échantillons de 25g

L'objectif principal de cette étude réalisée en 2005/2006 a été d'une part, de vérifier que l'exploitation de plates-formes de compostage « rustiques » (andains non couverts avec retournement) pour les sous-produits animaux peut être réalisée conformément aux nouvelles exigences sanitaires européennes et, d'autre part, proposer et valider les critères techniques d'exploitation et de contrôle pour garantir « l'hygiénisation » du produit fini, le compost.

La démarche suivie a porté sur :

- le choix et la validation d'un système de mesure et de contrôle de la température en temps réel (Thermo-bouton®),
- le contrôle de « l'hygiénisation » du procédé de compostage par des traceurs microbiologiques choisis et / ou réglementaires, au cours de la phase analytique (prélèvements).

Enfin, la définition des conditions d'exploitation optimales, analysées en fonction des données bibliographiques et des objectifs de sécurité sanitaire du compost, a permis de proposer un guide de bonnes pratiques du compostage selon le principe de la démarche HACCP. Cette étude de définition a nécessité de limiter l'expérimentation, en première phase, au compostage des lisiers et des contenus digestifs (matières stercoraires) pour plusieurs raisons :

1. ces matières de catégorie 2 ne nécessitent pas de traitement thermique ou mécanique préalable à leur compostage, à la différence de tous les autres sous-produits animaux aptes au compostage (stérilisation ou broyage)
2. les matières brutes entrant en compostage sont relativement stables du point de vue de leurs caractéristiques biologiques et physiques (paramètre considéré comme non variable), et homogènes
3. il existe déjà des unités de compostage des matières stercoraires en activité et en annexe d'un abattoir avec des procédés normalisés et validés.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. SITE D'EXPERIMENTATION

La faisabilité technique d'exploitation d'une unité de compostage selon les règles définies ci-dessus a nécessité le

choix d'une plate-forme déjà en activité comme site pilote d'expérimentation, réalisant le compostage des matières stercoraires et installée sur le site d'un abattoir depuis plusieurs années. Il s'agissait d'une plate-forme extérieure non couverte.

1.2 CONDITIONS D'EXPLOITATION

Les matières brutes mises en compostage étaient les contenus digestifs séparés du tube digestif (matières stercoraires en particulier et contenus intestinaux), avec absence totale de graisses méésentériques ou de fragment d'appareil digestif (matières de catégorie 1). Les deux andains étaient composés de matières stercoraires (75 %) et d'écorces ou d'onglons (25 %) qui jouaient le rôle de matériaux « structurants » pour une meilleure aération. Leurs dimensions étaient d'environ quatre mètres de base, deux mètres de haut et cinq mètres de long. Les rythmes d'aération du mélange en compostage étaient de quatre retournements à une semaine d'intervalle, puis un retournement à quinze jours d'intervalle et un retournement à un mois d'intervalle (soit au total deux mois et demi).

1.3 CONTROLE DE LA TEMPERATURE

Le système miniature de mesure et d'enregistrement de la température testé lors de l'expérimentation a été le Thermo-Bouton®, distribué par la société CHOFFEL Electronique, utilisé en agro-alimentaire pour le suivi de la chaîne du froid. Ce capteur de petite taille, protégé par une capsule d'acier inoxydable, était résistant à l'eau, réutilisable, et réglable (fréquence des relevés, seuils d'alarme,...) avec enregistrement des températures comprises entre - 40°C et + 85°C (plus de 2000 points de mesure), des périodes de dépassement d'alarme. Dix enregistreurs ont été répartis dans chaque andain : trois en « surface » à - 20 / 30 cm sur le haut du tas, trois au « cœur » du tas (- 1 m de hauteur), trois au niveau inférieur de l'andain (à + 20 / 30 cm au dessus du sol). Un capteur superficiel disposé à la surface de l'andain à une profondeur de -2 / 3 cm a été mis en place afin de contrôler l'évolution de la température et donc l'efficacité du traitement sanitaire, dans les conditions les plus défavorables. Un capteur supplémentaire a été utilisé pour l'enregistrement de la température extérieure.

Le pas de temps et la durée d'enregistrement de la température choisis sur chaque capteur étaient toutes les heures pendant deux mois et demi. Les capteurs numérotés (figure 1) ont été enlevés avant chaque retournement et repositionnés immédiatement après aux mêmes emplacements.

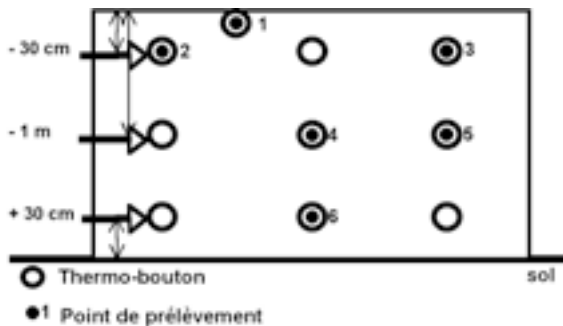
1.4 ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

De manière à suivre l'évolution sanitaire des matières stercoraires tout au long du procédé de compostage, dans le respect des exigences réglementaires européennes, des analyses microbiologiques ont été effectuées à partir de deux prélèvements des matières stercoraires entrantes fraîches avant compostage, puis à partir du compost (six échantillons prélevés, figure 1) à chaque retournement soit 1, 2, 3, 4, 6 et 10 semaines après la mise en place de l'andain. Les analyses suivantes ont été réalisées :

- agents indicateurs : dénombrement à partir d'une prise d'essai de 10 g des entérobactéries et *Escherichia coli* (NF V 09-053), entérocoques (NF T 90-432) et *Clostridium perfringens* (NF V 08-056) ;

- agents pathogènes : dénombrement des salmonelles (XP X 33 -018) et de *Listeria monocytogenes* (méthode NPP) dans les matières stercoraires entrantes et recherche (NF V 08-052 et 08-055) dans 25 g de compost ; recherche des œufs d'helminthes viables dans les matières stercoraires entrantes et dans 1,5 g de matière sèche de compost lors de la dernière campagne de prélèvements.

Figure 1 : Schéma de l'andain n° 2 (matières stercoraires + écorces) : emplacement des enregistreurs Thermo-bouton® et des points de prélèvement pour analyses



2. RESULTATS

Aucune différence majeure n'a été constatée entre les deux andains.

2.1. ENREGISTREMENT DE LA TEMPERATURE

L'enregistrement de la température ambiante par le Thermo-bouton® extérieur a mis en évidence deux périodes successives différentes avec un refroidissement sensible entre les deux : une moyenne de 11,4°C le premier mois, puis de 5,1°C. Dans les andains, la phase thermophile était relativement constante et correspondait aux quatre premières semaines avec des températures moyennes comprises entre 50 et 60°C ; c'était en général au cours de la première semaine que les températures étaient les plus importantes (60 à 70°C), avec parfois un prolongement sur la deuxième semaine. La reprise de la phase thermophile s'est toujours effectuée après chaque retournement, mais à partir du deuxième retournement, les températures atteignaient rarement des pics à 70°C comme c'était généralement le cas au début de la phase thermophile (première et deuxième semaine). La périphérie des andains est restée à des températures plus faibles (entre 30 et 40°C) sur une épaisseur au maximum de 10 cm. La diminution de température constatée pour l'ensemble des points de mesure après le quatrième retournement était plus marquée et plus rapide pour les parties profondes des andains.

2.2 ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

2.2.1 Matières stercoraires

Les analyses bactériologiques réalisées à partir des deux échantillons de matières stercoraires entrantes ont donné les résultats suivants : entérobactéries $1,8.10^7$ et $2,2.10^7$ ufc/g, *E. coli* $5,7.10^6$ et $6,3.10^6$ ufc/g, entérocoques $4,6.10^5$ et $1,2.10^5$ ufc/g, *C. perfringens* $3,2.10^2$ et $3,0.10^1$ ufc/g, *Salmonella spp* $3,8.10^1$ et $4,3.10^1$ NPP/g, *L. monocytogenes* $4,0.10^0$ et $4,3.10^0$ NPP/g.

2.2.2 Agents indicateurs de l'efficacité sanitaire du traitement

- **entérobactéries** : après un abattement significatif au cours des deux ou trois premières semaines, une augmentation notable mais variable des concentrations en entérobactéries

a été notée à partir du troisième retournement, sur l'ensemble des échantillons (tableau 2). Seuls les prélèvements en surface ont présenté des taux importants tout au long de l'étude, conséquence soit d'une plus faible augmentation de la température, soit de contaminations secondaires potentielles (fientes d'oiseaux).

- ***Escherichia coli*** : hormis pour les points en surface de l'andain, une très forte réduction a été constatée avec en général, dès le premier retournement, disparition des *E. coli* (<10 ufc/g) pour les points 4, 5 et 6, mais avec ponctuellement des taux compris entre 10 et 80 ufc/g sur toute la durée de l'étude (dix échantillons sur trente-six).

- **entérocoques** : hormis pour les points en surface de l'andain, on a constaté un abattement significatif dès le premier retournement, mais variable selon les points (min : <10 ufc/g, max : $7,0.10^2$ ufc/g) et, pour certains, une augmentation ponctuelle mesurée au troisième, cinquième ou sixième retournement sans qu'il ait été possible de la corrélérer à une évolution de la température ou à d'autres facteurs identifiables.

- ***Clostridium perfringens*** : on a observé la disparition rapide des formes végétatives (<10 ufc/g) dès le deuxième retournement, avec ponctuellement un taux de 170 ufc/g (un échantillon sur soixante), et l'absence de formes végétatives de *Clostridium perfringens* dans tous les échantillons lors du dernier prélèvement.

Tableau 2 : Résultats des analyses microbiologiques pour les prélèvements réalisés au point 5 de l'andain n°2.

	1 sem	2 sem	3 sem	4 sem	6 sem	10 sem
Entérobactéries ¹	100	<10	1 900	1 800	>150 000	77 000
<i>E. coli</i> ¹	<10	<10	80	<10	<10	<10
Entérocoques ¹	<100	<100	<100	<100	1 200	<100
<i>C. perfringens</i> ¹	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Salmonella spp</i> ²	absence	absence	absence	absence	absence	absence
<i>L. monocylo.</i> ²	absence	absence	absence	absence	absence	absence
Oufs d'hélm. ³	-	-	-	-	-	absence

1 : en ufc/g de compost ; 2 : dans 25 g de compost ; 3 : dans 1,5 g de matière sèche.

Respect des valeurs limites du Règlement CE n° 208/2006 modifiant les annexes VI et VIII du Règlement CE n° 1774/2002 pour le compost :

■ épandage possible, compost hygiénisé

■ épandage possible si 1 seul échantillon sur 5 < 5 000 ufc/g et 4 autres ≤ 1 000 /g pour *E. coli* ou les entérocoques.

2.2.3 Agents pathogènes

Les analyses des soixante-douze prélèvements de matières brutes de compost sur les deux andains ont montré l'absence de *Salmonella spp* et de *Listeria monocytogenes* dans 25 g de compost, et l'absence d'œufs d'helminthes viables sur les deux échantillons (un par andain) prélevés en fin d'étude.

3. DISCUSSION

Le compostage (dégradation aérobie thermophile) est considéré comme très efficace en matière d'hygiénisation, du fait de la température atteinte, de la durée du traitement, du développement d'une flore saprophyte rentrant en compétition avec les populations pathogènes (Hussong *et al.*, 1985) et de la stabilisation durable de la matière organique par minéralisation.

Le procédé de compostage utilisé dans cette étude était un système rustique en andains non couverts avec aération par retournement mécanique de l'andain. L'analyse des

températures a permis de valider le système Thermo-bouton® pour le contrôle en temps réel et l'enregistrement en continu de la température. Les enregistreurs ont été efficaces dans la gamme des températures mesurées et sur toute la durée de l'expérimentation.

Malgré des conditions climatiques rudes durant la période d'expérimentation (période hivernale dans le nord de la France), l'enregistrement des températures montre que des températures de 50 à 70°C ont été atteintes pendant plus de vingt et un jours. La hauteur des andains (environ 2 m) a permis une bonne circulation de l'air à travers le tas et donc une répartition relativement homogène des températures et de l'humidité. La périphérie de l'andain étant à une température plus faible, il est nécessaire que ces zones soient repositionnées au centre de l'andain lors des retournements dont le nombre doit être suffisant : cinq retournements permettent à chaque particule de séjourner au centre (Lemunier *et al.*, 2005). Dans cette étude, six retournements ont été réalisés, on peut donc estimer que chaque particule de compost a subi une élévation de température de l'ordre de 50 à 60°C pendant une semaine minimum ce qui permet d'obtenir un compost sans risque pour la fertilisation des sols (Dumontet *et al.*, 1999). Notons que pour certains auteurs, la température ne devrait pas dépasser 60°C (Bardos et Lopez-Real, 1988) car au-delà les populations de micro-organismes assurant le compostage pourraient être menacées et la stabilisation de la matière organique compromise, avec recroissance ultérieure possible d'organismes potentiellement pathogènes.

Aucune différence d'évolution des températures au cours des quatre premières semaines n'a été constatée entre les deux andains. L'apport de matière carbonée par les écorces (apport énergétique pour le métabolisme bactérien) aurait pu amplifier la montée en température au démarrage de la phase thermophile, mais il semble que le matériel carboné présent en quantité importante dans les matières stercoraires ait été suffisant. Cependant, pour les points situés en profondeur des tas, des baisses plus rapides de température ont été observées après les retournements, ce qui pourrait correspondre à un manque d'oxygène nécessaire au métabolisme bactérien du fait du tassement et de l'absence de structures lacunaires (Cekmecelioglu *et al.*, 2005). Mais là encore, aucune différence n'a été observée entre l'andain avec les écorces et celui avec les onglons.

Les phénomènes de recroissance observés ont pu être le fait de bactéries viables présentes dans les matières stercoraires traitées ou provenant d'une contamination secondaire pendant ou après le traitement. Dans la mesure où ces deux sources ne peuvent être éliminées, en particulier pour les systèmes « ouverts » en andains avec retournements, cas de l'expérimentation et de la majeure partie des plates-formes existantes, le traitement proprement dit, et donc le compostage, doit permettre la stabilisation de ces populations bactériennes tout en empêchant la recroissance grâce : 1) au maintien d'une forte activité biologique antagoniste des populations pathogènes (compétition biologique, prédation, inhibition...), 2) à la stabilisation par minéralisation de la matière organique nutriment des bactéries, 3) à la déshydratation progressive, le taux d'humidité du compost jouant un rôle important dans l'inactivation des différentes bactéries (Gong *et al.*, 2005).

Le choix initial des *Enterobacteriaceae* comme agent indicateur de traitement dans le cadre du règlement européen CE 1774/2002 modifié a été remis en question. En effet, compte tenu du nombre important de genres et d'espèces dans cette famille, leur dénombrement est rendu difficile par la présence de très

nombreuses populations bactériennes interférentes dont un certain nombre sont d'origine « environnementale », sans différenciation possible du fait de la non sélectivité du milieu de culture utilisé. Le choix des *E. coli* par rapport aux entérobactéries semble plus pertinent pour certains auteurs (Christensen *et al.*, 2002), ce que nous avons confirmé dans cette étude. La réduction importante du nombre d'*E. coli* et d'entérocoques est une bonne indication de l'hygiénisation du compost au cours de la phase thermophile (Pourcher *et al.*, 2005).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude a permis de montrer que le compostage des matières stercoraires peut être réalisé dans le cadre d'un système ouvert d'exploitation de plate-forme, et ce, tout en garantissant l'hygiénisation du produit fini et l'absence de risque sanitaire pour sa valorisation agronomique, selon les dispositions réglementaires européennes (règlement européen CE 1774/2002 modifié par le règlement CE 208/2006). L'agrément des plates-formes de compostage des matières stercoraires en système ouvert, existantes sur le territoire national et faisant l'objet d'une dérogation jusqu'au 30 juin 2008 pourrait être mis en place selon un protocole élaboré d'après la démarche HACCP. L'application de cette démarche au procédé de compostage des matières stercoraires devrait permettre d'assurer la bonne hygiénisation du compost et l'absence de recolonisation par des bactéries pathogènes. Trois points de maîtrise essentiels peuvent être identifiés : 1) le mélange des matières premières dont le rapport C/N (carbone/azote) et le taux de matière sèche doivent permettre une montée en température optimale au cours de la phase active, 2) le contrôle continu de la température pendant la phase active qui permet une réaction rapide si nécessaire en adaptant par exemple l'aération et la hauteur des andains ou le taux d'humidité du produit, 3) enfin, réglementairement, le contrôle de la qualité sanitaire du compost mûr (minéralisation de la matière organique la plus complète possible) qui repose sur l'analyse microbiologique. Compte-tenu des dispositions réglementaires européennes concernant la transformation et la valorisation des sous-produits animaux non destinés à la consommation humaine, cette étude pourrait être étendue aux autres sous-produits dont le compostage est une filière de valorisation autorisée, en particulier les sous-produits animaux de catégorie 3 comme, par exemple, les peaux, sabots, onglons, soies, plumes, etc.

Les auteurs remercient INTERBEV et l'Office de l'élevage pour le cofinancement de cette étude.

Bardos R.P., Lopez-Real J.M., 1988. In *EC workshop on compost processes in waste management*, 13-15 sept, Monastery of Neresheim, Germany

Cekmecelioglu D., Demirci A., Graves R.E., 2005. *J. Food Prot.*, 68,589-596

Christensen K.K., Carlsbaek M., Kron E., 2002. *J. Appl. Microbiol.*, 92, 1143-1158

Dumontet S., Dinel H., Baloda S.B., 1999. *Biol. Agr. and Hort.*, 16, 409-430

Gong C.M., Koichi I., Shunji I. et al., 2005. *J. Environ. Sci. (China)*, 17, 770-774

Hussong D., Burge W.D., Enkiri N.K., 1985. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50, 887-893

Lemunier M., Francou C., Rousseaux S. et al., 2005. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 5779-5786

Pourcher A.M., Morand P., Picard-Bonnaud F. et al., 2005. *J. Appl. Microbiol.*, 99, 528-539