

# Épandage des boues d'épuration urbaines sur les prairies : risque de cysticerose pour les ruminants et de téniasis pour l'Homme

Jacques Cabaret<sup>a</sup>, Marie-Noelle Moussavou-Boussouvou<sup>a</sup>,  
Maryline Madeline<sup>b</sup>, Céline Ballandonne<sup>b</sup>, Dominique Barbier<sup>b</sup>

<sup>a</sup> INRA, Bio-Agresseurs-Santé-Environnement, 37380 Nouzilly  
cabaret@tours.inra.fr

<sup>b</sup> Faculté de Pharmacie, laboratoire de Parasitologie, bd. Becquerel, 14032 Caen

Les boues issues de traitements des eaux usées peuvent être incinérées, ou destinées à la végétalisation ou à l'épandage sur grandes cultures ou prairies. En France, l'épandage concerne environ 60% des boues (à comparer avec la Wallonie - 90% -, le Luxembourg - 70% -, le Danemark - 67% -ou les Pays-Bas - 4%).

Ainsi, la majeure partie de ces épandages, en France, est destinée aux grandes cultures mais une partie est affectée aux prairies de fauche ou de pâture. Par exemple, une ville comme Tours, avec une entrée quotidienne de 47 000 m<sup>3</sup> d'eaux usées par jour, produit par an 13 700 t de boues à 30 % de matière sèche après passage sur filtres bande puis filtres presse. Pour réaliser l'épandage (environ 20 t/ha), il faut disposer de 685 ha/an de grandes cultures (ainsi à Tours : maïs 40%, tournesol 21%, colza d'hiver 20%, blé tendre 16%).

Les pathogènes sont nombreux dans les boues mais, pour la majorité, leur survie est assez faible. Cependant des éléments parasitaires présentent une résistance élevée dans ces milieux. En France métropolitaine, les boues résiduaires d'origine urbaine renferment fréquemment des œufs d'helminthes. Quelques nématodes parasites (Trichuridés : *Trichuris* et *Capillaria*, *Ascaris*, *Toxocara*) et cestodes (Taeniidés : *Taenia* et *Echinococcus*) méritent attention, les plus abondants étant les Trichuridés et les Taeniidés. En réalité, en France, comme dans la majorité des pays européens, seul *Taenia saginata* (Ténia du bœuf) peut avoir un impact sur la santé des ruminants et de l'Homme : le ver adulte, localisé dans l'intestin de l'homme, détermine le « téniasis », libère des proglottis (anneaux contenant les œufs du parasite) émis dans les selles qui aboutissent à la station d'épuration. Les œufs, s'ils sont disséminés dans la nature et ingérés par des bovins, poursuivent leur développement formant une larve (« cysticerque », d'où le nom de cysticerose) localisée au niveau des muscles. L'Homme se contamine par ingestion de viande parasitée mal cuite, le cysticerque se développant en quelques semaines en un nouveau ver. On conçoit donc la nécessité de surveiller la présence de ces œufs dans les boues tant pour la santé des bovins que pour celle de l'Homme.

Peu d'études fournissent des indications précises sur l'origine de l'infestation du cheptel. Pour aboutir à une réglementation cohérente concernant l'épandage des boues et le risque sanitaire éventuel (pour les animaux et l'Homme), des études complémentaires étaient nécessaires.

## 1. Mise en évidence des éléments parasitaires dans les boues

*Les aspects de numération* font l'objet de travaux actuellement en cours de discussion : sont confrontées une technique dérivée de celle employée aux États-Unis (EPA, pour Environmental Protection Agency) et une méthode fondée sur une « triple flottation » qui semblait plus efficace selon les travaux antérieurs de l'équipe de Parasitologie de la faculté de Caen. La première (dite EPA

modifiée), citée par la Conseil supérieur d'hygiène publique de France et recommandée par le législateur, ne semble pas très efficace pour la mise en évidence des œufs de *Taenia*.

Ces deux techniques ont fait l'objet d'une comparaison lors de trois séries d'essais inter-laboratoires rassemblant 10 à 18 laboratoires. Les résultats ont montré la supériorité de la triple flottation pour la mise en évidence des œufs de *Taenia*, certains laboratoires ayant en outre des difficultés d'examen avec la technique EPA se traduisant par une absence de réponse. Les mêmes appréciations ont été obtenues au cours d'un autre essai faisant appel à trois laboratoires spécialisés : l'EPA est inférieure à la triple flottation pour la mise en évidence des œufs de *Taenia*, mais est équivalente pour celle des œufs de nématodes. *Nous nous sommes naturellement tournés vers la technique de triple flottation qui assurait une meilleure numération des œufs de Taenia, avec une réussite plus importante pour la majorité des laboratoires et une absence de non-réponses.*

Le choix de la numération étant acquis, il fallait mettre en route une *évaluation de la viabilité*. De nombreuses tentatives avec des colorants vitaux ont été réalisées par le passé, avec des succès médiocres en terme de répétabilité. Nous avons mis au point une coloration fondée sur la présence (coloration bleue, liée à la transformation du MTT ou méthyl thiazolyl tetrazolium) ou l'absence d'une enzyme, la malate déshydrogénase (MDH). Cette coloration, fondée sur la présence de MDH active dans les œufs d'helminthes, est, à notre sens, témoin de la viabilité des œufs. Il apparaît que des boues autoclavées ont des œufs de *Taenia* avec des viabilités nulles, que des traitements hygiénisants à la chaux aboutissent à des viabilités très faibles (0-10%). Inversement, des boues seulement stabilisées ont des viabilités estimées de 14 à 49%. La répétabilité des viabilités pour une boue donnée est élevée.

Le contrôle de viabilité peut rendre compte de la qualité de l'hygiénisation, mais n'est qu'indicatif en ce qui concerne le pouvoir réellement infestant. Une infestation de bovins par ingestion d'œufs ayant des viabilités de 11 à 47% a montré *une bonne corrélation entre infestivité et viabilité estimée par la méthode au MTT*. Une technique est donc disponible, en ce qui concerne les œufs de *Taenia*, pour apprécier l'intensité du risque encouru lors d'épandage mal contrôlé, en terme de laps de temps entre épandage et pâturage par les bovins. Il est évident que des efforts supplémentaires sont à entreprendre, en particulier en ce qui concerne l'identification des œufs de parasites : les œufs des Trichuridés de rongeurs, de volaille et de l'Homme sont difficilement différenciables et la même remarque s'applique aux œufs de Taeniidés (qui peuvent être des « *Taenia* » de l'Homme ou des carnivores). Les risques concernant les *Taenia* peuvent donc être en partie surévalués (compte tenu de l'éventuelle présence de certains *Taenia* de carnivores, rares cependant dans les boues urbaines). La présence dans certains DOM-TOM de *Taenia solium*, du porc, qui peut être responsable de cysticerose neuro-cérébrale chez l'Homme, implique que, dans ces régions une différenciation fine soit mise en place. Elle ne pourrait se fonder que sur des méthodes de biologie moléculaire.

## **2. Fertilisation des prairies et cysticerose : études anciennes**

Bien que la prévalence de la cysticerose bovine soit très faible aux États-Unis (moins de 0,1%), des « épidémies » de cysticerose ont été observées et attribuées soit à des dysfonctionnement de la station d'épuration, soit à des défécations d'humains infestés dans les zones pâturées, soit à l'usage de boues d'épuration. Pour les fermes où l'origine de la cysticerose est liée aux boues d'épuration, les épandages de boues non hygiénisées sont très nombreux (une à quatre fois par an pendant des années), les bovins retournent sur les prairies 15 à 21 jours après l'épandage. Les épandages fréquents, le retour trop précocement sur les pâtures ainsi fertilisées sont les causes de l'infestation. Quelques épidémies anciennes ont été observées en Écosse, mais elles ont disparu lorsque les règles concernant l'épandage sur les pâtures ont été appliquées (six mois après un épandage de boues liquides non traitées ou trois semaines pour des boues hygiénisées par le stockage ou une fermentation aérobie à 30°C). Les mêmes phénomènes ont été observés au Danemark : *après l'application de procédures strictes relatives à*

*l'épandage de boues sur prairies, les épidémies ont disparu.* Le facteur de risque essentiel était la consommation d'eau de boisson dans laquelle des effluents de stations d'épuration étaient déversés, l'épandage de boues d'épuration sur les pâturages étant très secondaire. De l'ensemble de ces exemples, il ressort que, d'une part, les conditions d'épandage sont essentielles pour la prévention et, d'autre part, la contamination peut provenir de ruisseaux souillés par les rejets accidentels de stations d'épuration et où les bovins s'abreuvent. Ces rejets sont bien sûr interdits, mais sont parfois rendus obligatoires pour des raisons de dépassement du débit maximal, dans les stations de petite capacité dont les cuves ne sont pas couvertes, lors de pluies abondantes.

### 3. Du danger au risque : évaluation dans le cadre légal des épandages

L'arrêté du 8 janvier 1998 (*Journal officiel* du 31 janvier 1998) définit le cadre légal des épandages en France. Les parcelles proches d'un cours d'eau ou de topographie pentue sont à écarter. L'unité culturale doit être inférieure à 20 ha et une analyse préalable du sol récepteur doit être réalisée. Le délai entre l'épandage et la mise au pâturage des animaux est de trois semaines pour des boues hygiénisées, et de six semaines pour des boues non hygiénisées. Les mêmes contraintes sont applicables pour les fourrages, les dates se fondant non sur la mise au pâturage mais sur la date de récolte. Ces contraintes imposées par la législation sont inférieures à celles proposées dans les exemples anciens (vers 1980) en Écosse ou au Danemark, et on pouvait se demander si ces mesures étaient suffisantes pour assainir les boues épandues : une étude danoise a montré que la survie maximale des œufs de *Taenia saginata* était de 5 à 6 mois sur les pâturages.

Dans un premier temps, il fallait définir si des boues présentaient un danger. Pour le vérifier, nous avons administré 250 ml de boues liquides non hygiénisées pendant 10 jours à des bovins sevrés. Ces boues liquides correspondaient à une infestation faible (un à quelques œufs de *Taenia* par gramme de matière sèche, la viabilité étant de l'ordre de 40%). Les animaux ont présenté des réponses immunes contre le *Taenia* dès le 35<sup>e</sup> jour de l'infestation, et l'examen des carcasses après abattage a montré la présence de quelques cysticerques sur le cœur (1 à 6). Il y a donc un danger de cysticerose. Pour établir l'existence d'un risque, il était nécessaire de se placer dans les conditions imposées par la législation. Deux lots de cinq bovins normands indemnes de cysticerose ont été placés, six semaines après épandage (juillet), sur des parcelles fertilisées par des boues ou du lisier de bovin, à l'INRA de Nouzilly. L'infestation par *T. saginata* était suivie mensuellement par une technique immunologique (ELISA) mise au point à l'Institut tropical d'Anvers. Les résultats ont été négatifs (le seuil de sensibilité est de 60 cysticerques par bovin) tout au long de la saison de pâture qui s'est terminée en novembre. L'examen des carcasses n'a montré que *quelques nodules calcifiés (donc inoffensifs) sur la langue (0 à 3) chez les bovins ayant pâture sur les parcelles fertilisées par les boues* : l'infestation par *T. saginata* était donc très faible et abortive. Dans les conditions prescrites par la législation, le risque était donc nul dans cette expérience. Qu'en est-il des attendus de fertilisation et de production ? La production d'herbe a été largement supérieure dans les parcelles fertilisées par les boues, le nombre d'espèces végétales n'a pas été modifié, les gains de poids ont été significativement plus élevés (347 kg contre 333 kg de poids vif) dans le lot de bovins ayant pâture sur les parcelles fertilisées avec les boues d'épuration jusqu'en septembre, la différence s'estompant en novembre (365 kg contre 359 kg). Dans les conditions de notre expérience, les augmentations de production liées à la fertilisation ont été réelles et justifient l'emploi des boues. Les conditions d'utilisation proposées en France semblent satisfaire aux exigences de la prévention sanitaire et des attendus de production.

#### 4. Points critiques dans l'utilisation des boues d'épuration

Des études réalisées et des moyens techniques actuellement disponibles, il ressort les points critiques suivants : a) le contrôle initial des boues (la numération n'est pas encore assez précise, l'identification des pathogènes est encore grossière, les laboratoires s'approprient avec difficulté ces techniques) ; b) le respect des délais d'attente après épandage est sous la seule responsabilité de l'éleveur ; c) à l'abattoir, le contrôle sur l'animal de l'infestation est encore fruste (examen limité sur les carcasses, éventuellement technique ELISA) et ne repère pas les faibles infestations.

Le danger est établi par l'examen des boues au laboratoire. La technique EPA proposée par le législateur français ne permet pas une mise en évidence correcte des œufs de Taeniidés. *La technique de triple flottation le permet, et devrait remplacer la précédente, au moins pour ce qui concerne les boues destinées à l'épandage sur les prairies de fauche ou de pâture.* La technique de mise en évidence de viabilité que nous avons mise au point n'a aucun aspect obligatoire et, officiellement, le législateur propose une technique d'évaluation de la viabilité sur les nématodes (incubation de trois semaines à l'étuve), ce qui ne convient pas pour les *Taenia*. La situation nécessiterait donc une révision légale, fondée sur ces résultats récents. Le problème de numération n'est d'ailleurs pas complètement résolu. Selon les techniques, 1,5 ou 10 g de boues sont examinés, alors que 20 à 40 tonnes sont épandues par hectare. Les œufs de parasites rares ne sont jamais vus. L'émission d'œufs de *Taenia* par un seul homme infesté est très élevée et, grâce à ce phénomène, les techniques utilisées permettent de visualiser la contamination des boues dans la plupart des cas. Une amélioration technique devrait être envisagée pour augmenter l'efficacité des numérations. Les estimations de viabilité reposent sur quelques œufs, en raison de la faiblesse des numérations et n'ont qu'une valeur indicative dans les examens de routine. Un problème majeur est également à évoquer : les laboratoires pratiquent assez rarement ces examens, la reconnaissance des formes parasitaires n'est pas toujours aisée et des négatifs ou des positifs à tort sont quelquefois indiqués. Une formation avec agrément pour ce type d'examen est nécessaire si l'on veut des diagnostics fiables.

Le respect des conditions d'épandage édictées par le législateur est essentiel pour minimiser le risque, comme le montrent nos essais. Une information apportée aux éleveurs par le fournisseur des boues serait bienvenue, afin de rappeler les délais entre épandage et utilisation dans le cas particulier des prairies et, en particulier, des prairies à bovins. En effet, l'utilisation par des ovins de prairies fertilisées par des boues d'épurations contaminées par des *Taenia* n'induit aucune contamination particulière, comme nous l'avons montré. Le risque majeur est le *Taenia* pour les bovins et les conseils doivent s'organiser autour de cette réalité.

Le contrôle des bovins à l'abattoir repose sur un protocole qui ne permet de visualiser que les infestations importantes (rarement observées en Europe) et les infestations faibles ne sont pas repérées. Il ne paraît pas raisonnable de vouloir augmenter le temps imparti à l'inspection dans les abattoirs sur la cysticercose : la vigilance doit donc se situer au niveau de la contamination des bovins ■

#### Références bibliographiques

- CABARET J., BARBIER D., 2001. Les risques parasitaires liés à l'utilisation des boues résiduaires urbaines : utopie ou réalité ? *Bulletin de la Société Française de Parasitologie*, 19(1). ([www.tours.inra.fr/sfpar/bulletin/bulletin/2001/cabaret.htm](http://www.tours.inra.fr/sfpar/bulletin/bulletin/2001/cabaret.htm)).
- CABARET J., MOUSSAVOU-BOUSSOUGOU M.N., 2002. Épandages de boues d'épuration et risque sanitaire. *Action Vétérinaire*, 1558, 22-25.
- CABARET J., GEERTS S., MADELINE M., BALLANDONNE C., BARBIER D., 2002. The use of urban sewage sludge on pastures : the cysticercosis threat. *Veterinary Research*, 33, 575-598.
- MADLINE M., BALLANDONNE C., GUYON R., MALAS J.P., VILAGINES P., CABARET J., BARBIER D., 2001. Mise en évidence de la viabilité des œufs de Taeniidés dans les boues résiduaires urbaines. *Journal Européen d'Hydrologie*, 31(1), 85-90.