

# Une méta-analyse des données sur la réduction des agents pathogènes dans la digestion anaérobie

## Points forts

- L'ajout artificiel de pathogènes conduit à une surestimation de l'élimination.
- Les indicateurs pathogènes actuels représentent avec précision leurs groupes microbiens respectifs.
- La température, le pH et la durée du lot affectent la réduction des agents pathogènes.
- Les bactéries sporulées, y compris *Clostridium perfringens*, ne sont pas affectées par la MA.
- L'AD thermophile couplé à un post-traitement thermique répond à la plupart des limites législatives.

## Résumé

Le digestat issu de la digestion anaérobie (DA) peut être utilisé comme engrais organique ou pour l'amendement des sols.

Cependant, son utilisation pour la valorisation des ressources soulève des préoccupations légitimes en matière de biosécurité.

Malgré des recherches approfondies sur la capacité de la DA à réduire les agents pathogènes, la variabilité des résultats complique l'établissement de conclusions définitives.

Pour pallier ce manque d'unification, les résultats de 121 articles scientifiques ont été compilés et une méta-analyse complète a été réalisée.

Les résultats indiquent que l'ajout artificiel d'agents pathogènes entraîne une surestimation des performances.

Les indicateurs actuels les plus courants représentent fidèlement leurs groupes microbiens respectifs. Les Clostridiacées sont peu affectées par la DA et pourraient être favorisées par certaines technologies de prétraitement.

L'impact des paramètres opérationnels et du couplage des pré- et post-traitements avec la DA sur la réduction des agents pathogènes a également été étudié.

Si une durée optimale de traitement par lots a été identifiée, le temps de rétention hydraulique dans les systèmes (semi-)continus n'a pas affecté la réduction globale des agents pathogènes.

Les post-traitements thermiques couplés à la DA thermophile ont permis les réductions les plus importantes d'agents pathogènes, conformément à la législation.

Des analyses statistiques inédites ont permis de catégoriser quantitativement les paramètres clés.

Les résultats ont confirmé que la température est le paramètre le plus pertinent.

Les conditions thermophiles ont entraîné les plus fortes réductions de pathogènes, tandis que les températures psychrophiles et mésophiles ont montré des performances similaires.

L'impact du pH sur l'élimination des pathogènes a été confirmé, les valeurs acides et basiques améliorant la réduction des pathogènes.

Des recherches supplémentaires prenant en compte tous les produits de digestion anaérobie dans une approche d'optimisation multicritère (par exemple, réduction des pathogènes, production de biogaz et qualité du digestat) sont nécessaires pour déterminer les conditions optimales prenant en compte tous les aspects.

Cette étude fournit des conclusions novatrices et pertinentes pour la digestion anaérobie à l'échelle de la recherche et de l'industrie, ouvrant plusieurs perspectives de R&D.

## 1. Introduction

La nécessité d'un développement sociétal plus durable exige une transition de l'économie linéaire actuelle vers un système plus circulaire.

Cette approche privilégie la récupération et le recyclage des ressources issues des déchets, garantissant ainsi leur réintroduction dans la boucle production-consommation. Pour faciliter cette transition, d'importants efforts de recherche ont été consacrés au développement et à la mise en œuvre de technologies de valorisation des déchets respectueuses de l'environnement et rentables.

La digestion anaérobie (DA) est l'une des technologies les plus largement appliquées pour la valorisation des flux de déchets organiques.

La DA est un processus biologique bien établi avec un triple rôle :

- (i) production de biométhane (utilisé comme source d'énergie),
- (ii) traitement et stabilisation des déchets, et
- (iii) génération de digestat riche en nutriments [ 1 , 2 ].

La DA est devenue une technologie principale pour produire de l'énergie renouvelable et faciliter la récupération des ressources, avec plus de 182 000 digesteurs en fonctionnement dans le monde à différentes échelles [ 3 ].

Grâce aux politiques de soutien, le nombre d'usines de DA a considérablement augmenté au cours des dernières décennies.

En Europe, la capacité de production d'électricité à partir de biogaz a atteint 209 TWh en 2018, ce qui représente 7,4 % de l'électricité nette totale produite. Récemment, la Commission européenne a présenté l'ambitieux plan d'action REPowerEU, qui prévoit une multiplication par douze de la capacité de DA d'ici 2030 [ 4 ].

Cette expansion de la capacité de digestion anaérobie nécessitera la gestion efficace de plus grandes quantités de digestat. Actuellement, environ 290 à 300 millions de tonnes/an sont produites dans le monde, une valeur qui pourrait être multipliée par douze d'ici 2030 [ 5 ].

Le digestat contient généralement de fortes concentrations de nutriments facilement disponibles, de matière organique lentement biodégradable et d'oligo-éléments, ce qui en fait une ressource précieuse applicable comme engrais organique et pour l'amendement des sols [ 6 ].

Les avantages de l'application du digestat comme engrais sont significatifs par rapport aux déchets organiques bruts couramment utilisés (par exemple, le fumier).

Le digestat présente des avantages notables par rapport aux substrats bruts, affichant des concentrations d'agents pathogènes plus faibles, améliorant la disponibilité des nutriments pour l'absorption des plantes et réduisant considérablement le risque de pollution de l'eau et des sols en raison de sa nature à libération lente [ 5 ].

L'utilisation du digestat comme amendement des sols a le potentiel de remplacer 5 à 7 % de l'utilisation totale actuelle d'engrais inorganiques [ 7 ].

Malgré les avantages notables associés à l'utilisation du digestat, son application à des fins de récupération des ressources soulève des inquiétudes raisonnables. La persistance de micro-organismes pathogènes, fréquemment présents dans les matières premières issues de la digestion anaérobie et donc potentiellement dans le digestat après le processus de digestion anaérobie, en est un exemple. Si elle n'est pas gérée correctement, l'utilisation agricole du digestat pourrait entraîner la dissémination de pathogènes, posant de graves menaces pour la santé animale et humaine [ 8 , 9 ].

Pour prévenir et atténuer efficacement les risques associés à l'utilisation du digestat en agriculture, il est impératif d'élaborer et de mettre en œuvre des protocoles rigoureux de gestion et d'évaluation des risques tout au long du cycle de vie de la digestion anaérobie. Ces pratiques, réglementées aux niveaux national et international, jouent un rôle essentiel dans la protection de l'environnement et de la santé publique.

Par exemple, l'Union européenne (UE) a adopté une approche proactive en fournissant des lignes directrices complètes (à savoir, CE1069/2009 et CE142/2011) [ 10 , 11 ], qui établissent des pratiques et des protocoles standard pour l'exploitation des usines de digestion anaérobie.

Ces lignes directrices intègrent également des protocoles de collecte d'échantillons et des normes microbiologiques (c'est-à-dire les concentrations maximales autorisées d'indicateurs pathogènes), garantissant que le digestat est adapté à un usage agricole. Le respect de ces normes pour les micro-organismes ciblés est donc crucial, car leur présence pourrait limiter l'application du digestat.

Il existe certainement d'autres législations pertinentes dans le monde, comme celles de la Chine [ 12 ] ou des États-Unis [ 13 ]. Bien que plus ou moins restrictives et autorisant différentes applications du digestat, elles partagent toutes le même objectif : assurer l'utilisation sécuritaire des ressources récupérées du digestat.

La digestion anaérobie peut réduire efficacement la concentration de pathogènes présents dans une large gamme de matières premières, telles que les boues d'épuration, le fumier ou les biodéchets [ [14] , [15] , [16] , [17] ].

Cependant, la capacité de réduction des pathogènes de la digestion anaérobie (communément appelée hygiénisation) peut être insuffisante, ce qui entraîne des concentrations de micro-organismes dans le digestat dépassant les niveaux de biosécurité.

Pour améliorer l'inactivation des micro-organismes pendant la digestion anaérobie, il est crucial de comprendre et d'optimiser les facteurs influençant les performances de réduction des pathogènes.

Différents facteurs affectant l'élimination des pathogènes ont été identifiés, notamment le type de pathogènes présents, les sous-produits formés pendant le processus (par exemple, les acides organiques volatils (AGV) ou l'azote ammoniacal) et différents paramètres opérationnels (par exemple, la température ou le temps de rétention).

Malgré les efforts antérieurs déployés pour élucider les conditions optimales de réduction des pathogènes, le défi demeure, principalement en raison de la portée limitée de nombreuses études expérimentales, qui évaluent l'inactivation de pathogènes spécifiques dans des conditions opérationnelles spécifiques, ce qui donne lieu à des données qui ne peuvent être extrapolées et même à des résultats contradictoires.

Pour répondre à cette problématique, il est essentiel d'adopter une approche plus globale et holistique, par exemple en réalisant une méta-analyse des données issues de la littérature existante.

Seules deux études récentes ont adopté une telle approche, unifiant et synthétisant les données existantes pour comprendre l'inactivation des pathogènes pendant la digestion anaérobie. La première étude a présenté une revue descriptive, limitant ses analyses statistiques à quelques facteurs [ 18 ].

Elle a mis en évidence l'impact considérable du type de pathogène, de la température et du mode d'alimentation du réacteur sur l'inactivation des pathogènes. Plus précisément, les températures thermophiles et le mode discontinu semblaient être les conditions optimales pour atteindre des rendements d'élimination élevés.

Bien que cette étude ait fourni des informations précieuses, elle a laissé de nombreux aspects inexplorés.

Par exemple, l'impact du type de réacteur n'a pas fait l'objet d'une évaluation complète, et les conditions opérationnelles critiques, notamment le pH et le taux de charge organique (OLR), n'ont pas été examinées en profondeur.

L'étude n'a pas non plus évalué l'effet du couplage de différents pré- et post-traitements à la digestion anaérobie.

La deuxième étude a mené une analyse statistique plus approfondie pour élucider et quantifier l'influence des conditions opérationnelles de la digestion anaérobie sur l'inactivation des principaux indicateurs pathogènes d'origine alimentaire [ 17 ].

Cette méta-analyse a démontré l'efficacité de la DA pour réduire efficacement certaines espèces pathogènes, telles que les coliformes fécaux , *Escherichia coli* ou *Salmonella* spp.

Parmi les résultats notables, on peut citer l'impact positif de la température, des concentrations élevées d'AGV intermédiaires et des prétraitements sur la réduction des pathogènes.

Cependant, cette étude présente des limites importantes.

En effet, elle s'est concentrée uniquement sur des pathogènes spécifiques (c.-à-d. les micro-organismes à Gram négatif) et a analysé chaque pathogène individuellement. La diversité des comportements des différents groupes de micro-organismes pendant la DA (par exemple, les bactéries à Gram négatif, les bactéries à Gram positif, les bactéries sporulées à Gram positif, les virus ou les parasites) compromet l'extrapolation de ces résultats d'un groupe à l'autre.

La présente étude vise à consolider et analyser les données expérimentales disponibles, offrant une vision globale de la capacité de la DA à éliminer les pathogènes. Plus précisément, l'impact de différentes conditions opérationnelles et conceptions/types de réacteurs sur la performance de réduction des pathogènes a été évalué.

Contrairement aux études précédentes, une large gamme de réacteurs, de substrats et de conditions opérationnelles a été prise en compte, et tous les micro-organismes pertinents ont été inclus. Pour la première fois, une analyse quantitative des données a été réalisée afin d'identifier les paramètres les plus influents sur l'élimination des pathogènes.

De plus, une évaluation intégrée de la chaîne de traitement par DA a été réalisée en examinant l'impact des processus courants de prétraitement et de post-traitement (seuls ou associés à la DA) sur la réduction des pathogènes, afin d'identifier les conditions conduisant à l'élimination la plus élevée des pathogènes.

Enfin, la base de données obtenue a été comparée à deux réglementations pertinentes relatives aux pathogènes afin d'évaluer la conformité aux exigences réglementaires. La prise en compte de ces divers facteurs a permis de mieux comprendre l'efficacité globale de la DA pour l'inactivation des pathogènes et d'optimiser sa performance de réduction des pathogènes.

Une meilleure compréhension du processus de réduction des pathogènes est essentielle pour développer des processus de gestion des déchets plus efficaces et permettre une valorisation sûre des ressources. En fin de compte, cette recherche a le potentiel de contribuer de manière significative à garantir la production d'un digestat sûr et de haute qualité, essentiel pour stimuler la mise en œuvre de la digestion anaérobie.

## **2. Matériel et méthodes**

### **2.1 . Stratégie de recherche d'articles et processus de sélection**

Une recherche documentaire exhaustive a été menée depuis sa création jusqu'en mai 2023 à l'aide de la base de données Web of Science (WoS).

Un ensemble de mots-clés spécifiques a été choisi pour identifier les articles portant sur la capacité de réduction des agents pathogènes de la MA. La chaîne booléenne utilisée était la suivante : (« *Digestion anaérobie* \* » OU *biogaz*) ET (*coliformes*\* OU *Enterococc*\* OU *faecalis* OU *perfringens* OU *botulinum* OU *Citrobacter* OU *Enterobacter*\* OU *Escherichia* OU *coli* OU *Klebsiella* OU *Salmonella* OU *Shigella* OU *Listeria* OU *Campylobacter* OU *Parvovirus* OU *Ascaris* OU *helminthes* OU *œuf*\* OU *pathogène*\* OU *\*virus\**) ET (*température* OU *pH* OU « *temps de rétention* » OU *ammoniac*\* OU *acide gras volatil*\* OU *AGV*\* OU « *taux de charge organique*\* » OU *biochar* OU « *matériau conducteur*\* ») ET (*réduction* OU *élimination* OU *inactivation* OU *diminution* OU *hygiénisation* OU *assainissement* OU « *viable mais \*culturable\** » OU *VBNC*\*) ET (*boues* OU *fumier* OU *lisier* OU *\*déchet* OU *abattoir* OU « *sous-produit animal*\* » OU *aliment*). L'astérisque (\*) est utilisé pour représenter toute séquence de caractères. Les références identifiées par des méta-analyses/revues précédentes ont également été examinées [ 14 , 15 , 17 , 18 ].

Les critères d'éligibilité étaient les suivants :

(i) articles évalués par des pairs publiés en anglais et disponibles en texte intégral, (ii) études originales évaluant la réduction des agents pathogènes pendant la DA , (iii) études originales évaluant la réduction des agents pathogènes incluant différents pré- et/ou post-traitements et (iv) disponibilité de données sur la réduction des agents pathogènes ou de données permettant son calcul. Les données provenant de chapitres de livres, de revues systématiques , de méta-analyses, d'articles de conférence et de lettres à l'éditeur ont été exclues.

D'autres critères d'exclusion comprenaient :

(i) l'absence d'entrées ou de sorties clés, (ii) des unités rapportées incompatibles avec le calcul de la réduction des agents pathogènes, ou (iii) des incohérences dans les données fournies (par exemple, des rendements de méthane déraisonnables ou des valeurs de réduction des solides volatils (VS) déraisonnables).

## 2.2 . Collecte de données

Les données ont été extraites de tableaux ou de textes d'articles. Lorsque les données n'étaient pas explicitement fournies, les valeurs ont été extraites de graphiques et/ou calculées manuellement. Les données extraites ont été organisées dans une feuille de calcul à l'aide de Microsoft Excel.

Les données comprenaient des informations cruciales concernant les expériences individuelles, telles que le type de réacteur, le mode d'alimentation, l'inoculum du réacteur, la matière première , les conditions de fonctionnement du réacteur et les principaux résultats du procédé tels que la réduction des agents pathogènes ou le rendement en méthane. Des catégories ont été définies pour différents facteurs, notamment les types de réacteurs, les matières premières (y compris les mélanges indiqués comme « codigestion ») et les micro-organismes étudiés. La base de données complète et une liste des catégories considérées se trouvent dans le matériel supplémentaire ( tableau S1 ).

La base de données a également été déposée dans le référentiel de données de recherche Mendeley Data [ 19 ]. Des hypothèses ont été appliquées pour la normalisation des données (voir l'annexe A ).

La réduction des agents pathogènes a été quantifiée en termes de réduction logarithmique (LR), exprimée en  $\log_{10} (N_0 / N_1)$ , où  $N_0$  représente le nombre initial d'unités formant des colonies (UFC) ou le nombre le plus probable (MPN) de micro-organismes avant AD , avant ou

après traitement et  $N_1$  représente le nombre d'UFC ou de MPN après AD, avant ou après traitement.

Les données obtenues à l'aide de techniques moléculaires, telles que la réaction en chaîne par polymérase quantitative (qPCR), ont également été incluses dans la base de données [ 19 ] et sont brièvement discutées dans la section 4.

Cependant, elles ont été exclues de la méta-analyse en raison du nombre limité de points de données disponibles.

### 2.3 . Analyse statistique et représentation des données

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R Statistical Software (v4.3.2 ; R Core Team, 2023) [ 20 ]. Pour évaluer les différences significatives entre les groupes avec des données distribuées normalement et des variances homogènes, une analyse de la variance (ANOVA) a été utilisée.

Des tests post-hoc de différence significative honnête (HSD) de Tukey ont ensuite été appliqués pour les comparaisons par paires (les différences entre les groupes sont indiquées par des lettres en haut des boîtes à moustaches).

La validité des hypothèses de l'ANOVA a été évaluée par une analyse de normalité à l'aide de tests de Shapiro-Wilk et d'homogénéité de la variance à l'aide de tests de Bartlett. Pour les cas impliquant des données non distribuées normalement, des tests non paramétriques ont été utilisés. Plus précisément, le test de Kruskal-Wallis a été utilisé, suivi des tests de Dunn pour les comparaisons par paires. Un seuil de signification de 95 % (  $p = 0,05$  ) a été appliqué pour tous les tests.

Les boîtes à moustaches fournies affichent les points de données correspondant à la valeur la plus basse dans un rayon de 1,5 fois l'écart interquartile (EI) du premier quartile, au premier quartile lui-même, à la médiane, au troisième quartile et à la valeur la plus élevée dans un rayon de 1,5 fois l'EI du troisième quartile. Les valeurs inférieures à la valeur la plus basse ou supérieures à la valeur la plus élevée dans les boîtes à moustaches ont été identifiées comme des valeurs aberrantes.

Des analyses de régression des moindres carrés partiels (PLS) ont été réalisées afin de déterminer quantitativement les paramètres affectant le plus les performances de réduction des pathogènes. Pour ce faire, le LR a été utilisé comme variable de sortie et la classification des micro-organismes, la température, le pH et le temps de rétention hydraulique (TRH ; pour les réacteurs semi-continus) ou la durée du lot (pour les réacteurs discontinus) comme variables d'entrée. La PLS a été réalisée dans R 4.3.2, à l'aide des packages pls (fonction pls) et ggplot2 [ 21 , 22 ].

## **3. Résultats et discussion**

### 3.1 . Recherche et sélection de la littérature

Dans cette méta-analyse, une recherche documentaire rigoureuse a été réalisée pour identifier les études pertinentes concernant la capacité de réduction des agents pathogènes de la MA, y compris les articles évaluant l'impact de différentes technologies de pré- et post-traitement. Cent cinquante entrées utilisant la chaîne booléenne décrite précédemment ont été récupérées.

Le processus de sélection, guidé par des critères d'inclusion et d'exclusion prédéfinis (voir Section 2.1 ), a été systématiquement appliqué. La sélection initiale des titres et des résumés a abouti à 214 entrées éligibles pour une évaluation plus approfondie. La sélection du texte intégral a identifié 121 articles (N) répondant aux critères d'inclusion, ensuite inclus dans la méta-analyse.

Une liste complète des 121 articles répondant aux critères d'inclusion et une autre liste incluant les 92 articles exclus après la revue du texte intégral (avec les raisons des exclusions) peuvent être trouvées dans le matériel supplémentaire ( Tableau S1 et Tableau S2 ) et dans le référentiel de données Mendeley [ 19 ].

Un total de 2051 points de données indépendants (n) ont été extraits des 121 articles. Parmi ceux-ci, 1526 points de données étaient consacrés à l'étude de la réduction des agents pathogènes pendant la DA, soit seule, soit couplée à des processus pré- ou post-traitement ( Tableau S1 ).

Les 525 points de données restants correspondaient à des données spécifiquement axées sur la réduction des agents pathogènes pendant les processus pré-traitement (n = 350) ou post-traitement (n = 175) seuls ( Tableau S1 ).

### 3.2 . Aperçu des données

Afin de garantir l'impartialité de l'ensemble de données obtenu et la possibilité d'extrapoler les résultats aux processus généraux de la DA, une analyse détaillée des sources de données a été réalisée. La base de données comprenait des résultats de recherche provenant de diverses régions sur les cinq continents ( Fig. S1 ), avec un accent particulier sur l'Amérique (N = 48) et l'Europe (N = 41).

Parmi ces pays, les États-Unis (N = 24), l'Espagne (N = 15) et le Canada (N = 11) se sont distingués. Des contributions notables proviennent également de Chine (N = 9) et du Japon (N = 8).

Cette répartition mondiale offre une perspective diversifiée, renforçant la robustesse et l'applicabilité mondiale des résultats présentés.

Concernant les années de publication, les données révèlent une augmentation récente du nombre d'études ( Fig. S2 ).

De 1997 à 2005, seules 2,7 études en moyenne par an se sont concentrées sur la réduction des agents pathogènes au cours de la MA. Entre 2006 et 2015, cette moyenne est passée à 4,9 études par an, atteignant son pic après 2016 avec une moyenne de 6,0 études par an. Cela souligne l'intérêt croissant de la communauté scientifique pour la MA et les risques de dissémination des agents pathogènes qui y sont associés.

Une disparité évidente a été observée dans l'échelle des études, avec une majorité substantielle menée à l'échelle du laboratoire (74,4 %), suivie par des études à l'échelle pilote (17,3 %) et des études à l'échelle industrielle (11,6 %) ( Fig. S3A ).

En ce qui concerne les matières premières de digestion anaérobie, les boues d'épuration (50,4 %) et les déchets et effluents d'élevage (35,5 %) étaient les plus répandus ( Fig. S3B ).

Les études de monodigestion étaient prédominantes (88,4 %), suivies de la codigestion des déchets agricoles/biodéchets (9,0 %) ( Fig. S3C ).

### 3.3 . Impact du dopage artificiel sur la réduction des agents pathogènes pendant la maladie d'Alzheimer

Le premier résultat de cette analyse concerne un aspect crucial de la méthodologie employée dans les études rassemblées. Alors que la plupart des articles de la base de données évaluaient la réduction des pathogènes autochtones, plusieurs articles évaluaient cette réduction après l'introduction artificielle de pathogènes dans les substrats.

Cela a soulevé une question concernant l'impact potentiel de l'introduction artificielle de pathogènes dans les substrats sur les performances de réduction des pathogènes obtenues. Pour y répondre, la base de données a été divisée en deux groupes expérimentaux distincts :

l'un comprenant des expériences dans lesquelles les pathogènes autochtones naturellement présents dans la matière première de la digestion anaérobie ont été évalués, et l'autre comprenant des expériences où des pathogènes avaient été introduits dans la matière première avant la digestion anaérobie.

La comparaison des performances de ces deux groupes montre clairement que l'inoculation artificielle de pathogènes conduit à une surestimation de la capacité de réduction des pathogènes de la digestion anaérobie ( Fig. 1 ).

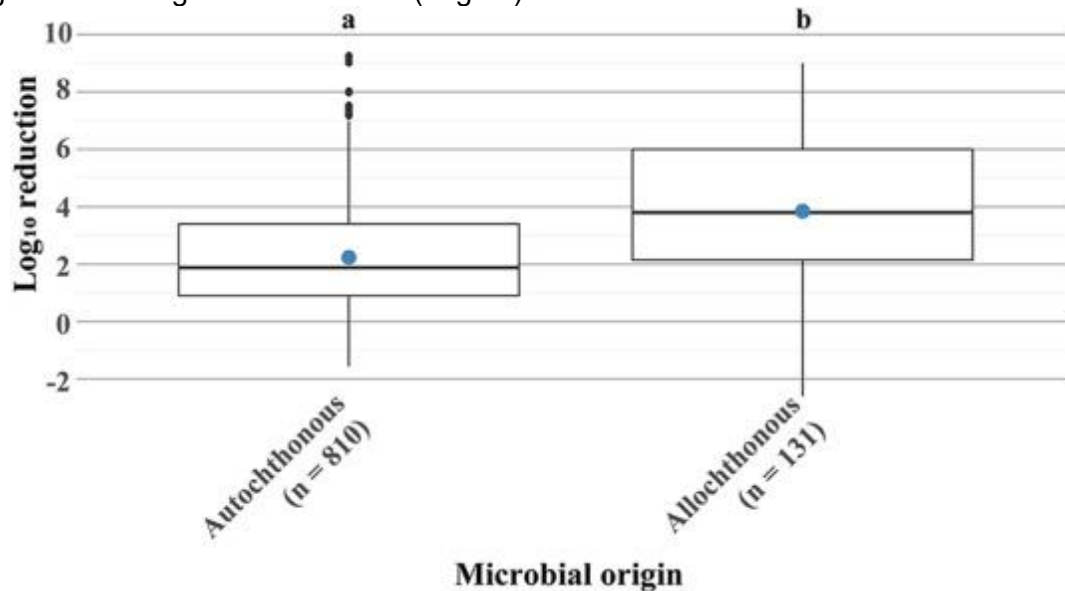


Fig. 1. Réduction logarithmique <sub>10</sub> des micro-organismes pour les expériences étudiant la réduction des pathogènes autochtones (naturellement présents dans la matière première) et pour les expériences dans lesquelles des pathogènes allochtones ont été inoculés. Les valeurs moyennes sont représentées par des points bleus. Les lettres identiques au-dessus des boîtes à moustaches indiquent des groupes homogènes. n représente le nombre de points de données indépendants.

La réduction différente des pathogènes entre les pathogènes autochtones et allochtones peut être attribuée à l'adaptation des micro-organismes natifs au substrat et aux conditions intervenant lors de sa décomposition naturelle (potentiellement similaires à celles de la DA). Les populations autochtones peuvent également être protégées lorsqu'elles sont présentes dans des environnements hautement structurés physiquement, tels que des granules ou des biofilms. Les pathogènes inoculés peuvent ne pas posséder ces adaptations, ce qui peut affecter leur survie et leur persistance.

Bien que la sensibilité spécifique des pathogènes allochtones à la réduction pendant la DA n'ait pas été explicitement comparée à celle des pathogènes autochtones, il semble évident que leur comportement et leur devenir dans les systèmes de DA sont clairement influencés par leur origine. Une tendance similaire a été observée dans des études antérieures où les virus et les bactériophages allochtones ont connu un déclin rapide lors de l'inoculation dans les boues par rapport aux micro-organismes autochtones [ 23 ].

Cette réduction rapide du nombre a été attribuée à un effet de matrice. Lors des expériences de dopage, la matière première est généralement inoculée avec une concentration initiale de micro-organismes supérieure à leurs niveaux naturels dans le substrat (environ 1 log<sub>10</sub> ).

La résistance réduite des micro-organismes allochtones, combinée à des concentrations artificielles plus élevées dans la matière première destinée à la réduction des pathogènes, pourrait expliquer l'augmentation observée de la réduction des pathogènes.

Cette découverte a des implications particulièrement importantes pour la recherche, car elle implique que les études axées sur l'augmentation artificielle des pathogènes (17,3 % du total)

pourraient ne pas représenter fidèlement les scénarios réels en termes de réduction des pathogènes.

Ainsi, les résultats LR obtenus pourraient être biaisés, et l'extrapolation des conclusions associées pourrait conduire à des surestimations potentiellement dangereuses des capacités de réduction des pathogènes.

Des études à l'échelle du laboratoire potentiellement dosées avec des pathogènes allochtones pourraient être utiles pour étudier des facteurs d'inactivation spécifiques et/ou certains processus microbiens, mais les réductions microbiennes globales ne doivent pas être extrapolées à des systèmes à l'échelle.

Selon ce résultat et pour atténuer les biais potentiels associés à la méthodologie suivie lors des études dans la base de données, les analyses ultérieures ont été menées en utilisant uniquement des données sur la réduction des agents pathogènes autochtones.

### 3.4 . Impact du groupe microbien ciblé sur la réduction des agents pathogènes

La première évaluation de l'efficacité globale de la DA en matière de réduction des agents pathogènes a consisté en une analyse complète de la réduction des agents pathogènes dans l'ensemble de la base de données. L'analyse réalisée a montré un LR moyen de  $2,23 \pm 1,81$  ( $n = 810$ ), confirmant ainsi l'idée bien établie selon laquelle la DA peut réduire efficacement les agents pathogènes [ 14 , 17 , 18 ].

La physiologie , la morphologie et le métabolisme microbiens affectent la survie des micro-organismes dans différentes conditions de stress. Ainsi, il est raisonnable de supposer qu'ils jouent un rôle essentiel dans le devenir des micro-organismes pendant la digestion anaérobie. Dans des scénarios pratiques, l'analyse de tous les pathogènes potentiels présents dans un digestat est impossible.

Par conséquent, la sélection d'indicateurs de pathogènes est essentielle pour des évaluations efficaces de la qualité/sécurité.

Le règlement de l'UE intègre des indicateurs spécifiques tels qu'*Escherichia coli* (bactéries Gram-négatives), *Enterococcus* spp. (bactéries Gram-positives) et *Clostridium perfringens* (bactéries Gram-positives sporulées) pour surveiller les principaux groupes microbiens dans les digestats [ 11 , 24 ], bien qu'ils ne soient pas tous requis dans tous les scénarios et voies de conformité réglementaire (voir section 3.11 ).

En conséquence, les micro-organismes ont été classés en grands groupes microbiens (y compris les bactéries Gram-négatives, les bactéries Gram-positives, les bactéries Gram-positives sporulées et les virus), et des analyses ultérieures ont été menées. Les indicateurs pathogènes mentionnés précédemment de chaque groupe microbien ont également été pris en compte.

Les coliphages somatiques ont également été inclus dans l'analyse car ils sont utilisés comme indicateurs viraux au niveau européen comme indicateurs de contamination fécale dans l'eau potable [ 25 ].

Les résultats obtenus soulignent que la résistance des micro-organismes pendant la MA est étroitement liée à des mécanismes de survie bien connus et à des traits adaptatifs inhérents à chaque groupe de micro-organismes ( Fig. 2 ).

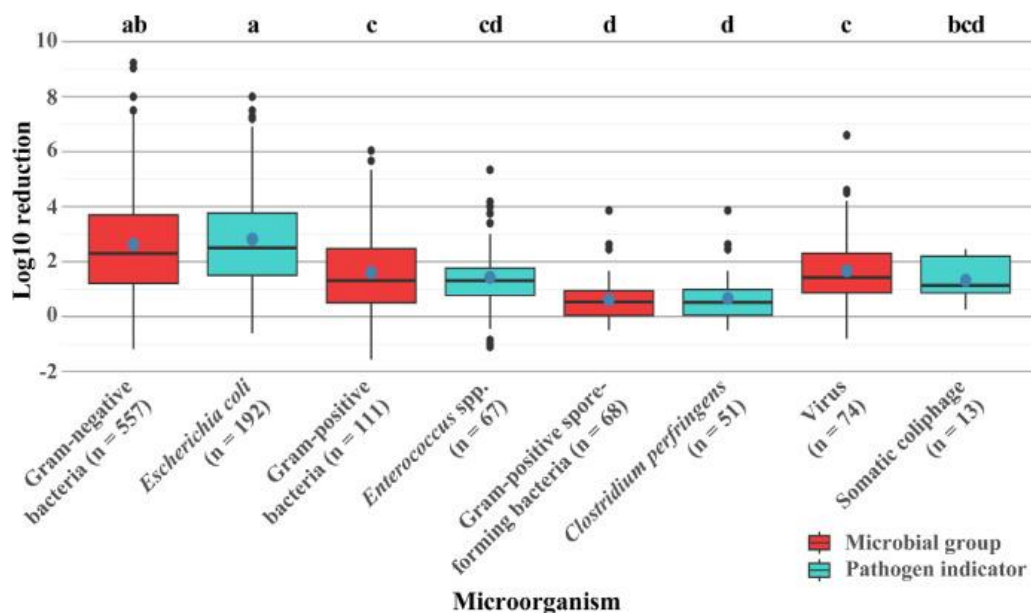


Fig. 2. Réduction logarithmique  $_{10}$  des micro-organismes pour différents groupes (rouge) de micro-organismes et pour leurs indicateurs pathogènes respectifs (bleu). Les valeurs moyennes sont représentées par des points bleus. Seuls les groupes microbiens avec trois valeurs indépendantes ou plus ( $n \geq 3$ ) sont présentés. Les lettres identiques au-dessus des boîtes à moustaches indiquent des groupes homogènes. n représente le nombre de points de données indépendants.

Les réductions moyennes des concentrations d'agents pathogènes observées pendant la MA variaient selon les groupes microbiens, les réductions les plus significatives étant observées pour les bactéries Gram-négatives (LR moyen de  $2,63 \pm 1,83$ ). Les bactéries Gram-négatives sont caractérisées par une paroi cellulaire comportant une membrane externe riche en lipides et une monocouche de peptidoglycane [ 26 ].

Cette composition structurale offre une protection limitée contre les facteurs de stress environnementaux rencontrés pendant la MA, tels que des valeurs de température ou de pH non optimales [ 27 ].

Ceci est en accord avec des études précédentes [ 18 ]. Après les bactéries Gram-négatives, les virus et les bactéries Gram-positives présentaient les deuxièmes valeurs de réduction les plus élevées, avec des LR moyens de  $1,66 \pm 1,40$  et  $1,61 \pm 1,57$ , respectivement. Les bactéries Gram-positives possèdent une paroi cellulaire robuste constituée de peptidoglycane multicouche entrelacé avec de longs polymères anioniques connus sous le nom d'acides téchoïques [ 26 ]. Cette structure complexe leur confère une meilleure protection dans des conditions de stress, survivant à une large gamme de valeurs de pH et de température ou sous des concentrations de NaCl plus élevées (pressions osmotiques) que les bactéries Gram-négatives [ 28 ]. Les virus s'appuient sur des capsides protéiques comme principal mécanisme de résistance.

Des facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'incidence de la lumière solaire ou les polluants atmosphériques peuvent affecter de manière significative la viabilité et l'infectiosité des virus [ 29 ].

L'ensemble de données créé tenait principalement compte des virus non enveloppés, une catégorie connue pour sa forte persistance environnementale [ 30 ]. Cette considération explique leur plus grande résistance à la MA par rapport aux bactéries Gram-négatives. Enfin, les bactéries sporulées à Gram positif étaient les plus résistantes à la MA, avec un LR moyen de  $0,62 \pm 0,74$ . Ce résultat n'est pas surprenant étant donné que certaines bactéries sporulées,

telles que *Clostridium* spp. pathogènes, peuvent survivre et même repousser dans certaines conditions de MA [ 31 ].

Cette résistance élevée peut s'expliquer par leur capacité à produire des spores intracellulaires, qui sont une forme dormante de bactéries végétatives très résistantes aux stress physiques et chimiques [ 32 ].

La stimulation de la germination des spores suivie de l'inactivation des cellules végétatives résultantes pourrait potentiellement améliorer l'efficacité de la réduction des agents pathogènes.

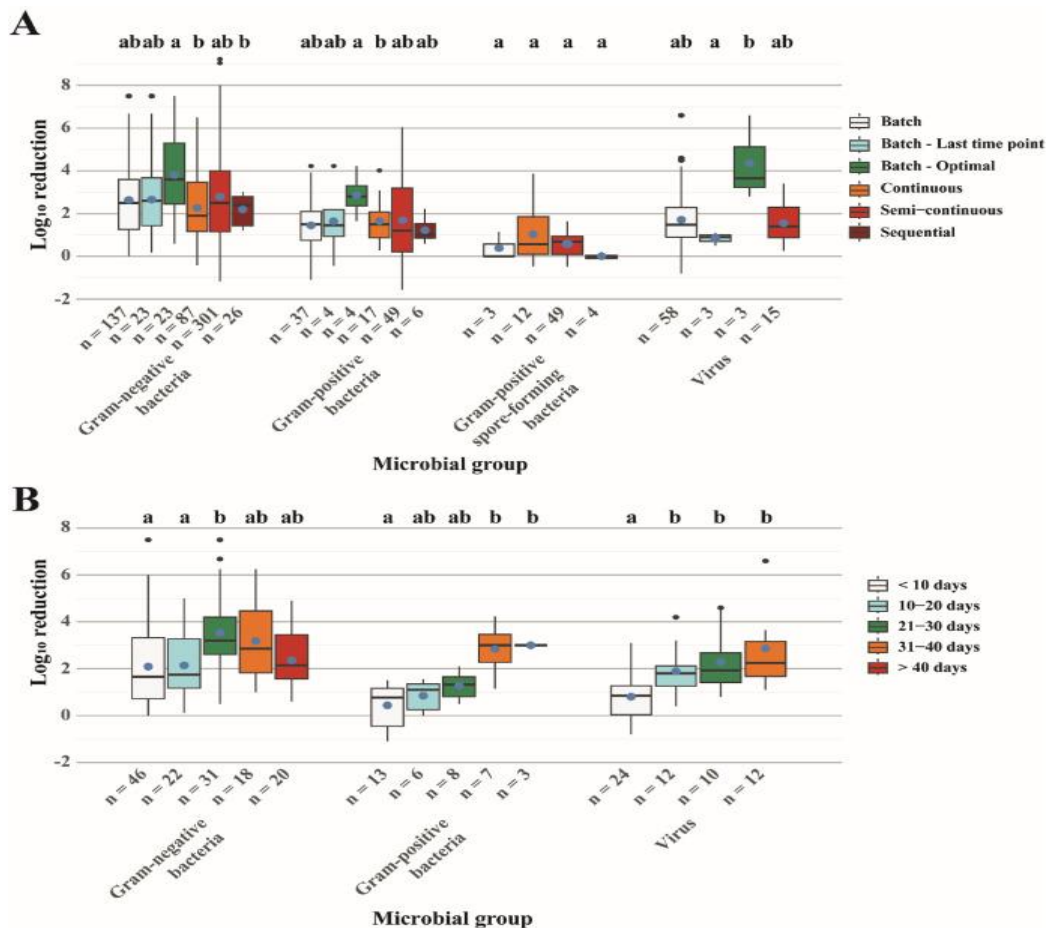
Ces résultats sont conformes aux études précédentes [ 18 ], où des conclusions similaires ont été soulignées. Les auteurs ont rapporté des valeurs de LR élevées, telles que 2,2 à 5,0 pour les bactéries Gram-négatives et 1,8 à 3,0 pour les bactéries Gram-positives (écarts interquartiles). Ces valeurs sont plus élevées que celles présentées dans cette étude ( $2,63 \pm 1,83$  et  $1,61 \pm 1,57$ , respectivement).

Ces différences peuvent être attribuées à l'inclusion potentielle de données provenant d'études prenant en compte la multiplication des agents pathogènes, qui ont été exclues de cette analyse.

Pour confirmer la représentativité des indicateurs pathogènes actuels, leurs réductions ( Fig. 2 , bleu) ont été comparées à chaque groupe correspondant qu'ils représentent ( Fig. 2 , rouge). Les résultats ont montré que les indicateurs pathogènes représentent précisément leurs groupes respectifs ( Fig. 2 ).

Aucune différence significative n'a été trouvée entre chaque paire d'indicateurs de groupe, confirmant la validité de l'extrapolation de la suppression de ces indicateurs à chaque groupe correspondant.

### 3.5 . Impact du type de réacteur ou de la stratégie d'alimentation sur la réduction des agents pathogènes



Une analyse a été réalisée afin de déterminer si les modes d'alimentation et le type de réacteurs utilisés dans les études avaient un impact sur les performances de réduction des pathogènes.

Le mode d'alimentation (classé comme discontinu, semi-continu, continu et séquentiel) n'a pas eu d'incidence sur les LR globaux obtenus ( Fig. 3 A).

Fig 3. Réduction logarithmique 10 des micro-organismes pour

A) différents groupes de micro-organismes et différents modes d'alimentation et

B) chaque groupe microbien dans des réacteurs discontinus avec des durées différentes. Les valeurs moyennes sont représentées par des points bleus.

Seules les conditions avec trois valeurs indépendantes ou plus ( $n \geq 3$ ) sont présentées. Les lettres identiques au-dessus des boîtes à moustaches indiquent des groupes homogènes. n représente le nombre de points de données indépendants.

Des revues précédentes ont souligné que, pour certains agents pathogènes, les réacteurs discontinus peuvent conduire à une réduction accrue des agents pathogènes [ 17 , 18 ]. Cette amélioration est généralement attribuée aux pics transitoires d'AGV pendant les tests par lots [ 18 ].

Une autre possibilité est que, tandis que les configurations par lots garantissent que tous les agents pathogènes restent dans le réacteur pendant toute la durée du processus de digestion anaérobie, le HRT dans un système (semi)continu représente une moyenne, ce qui implique que certains micro-organismes pourraient quitter le réacteur en raison de courts-circuits, affectant ainsi leur réduction.

Les données globales ne montrent pas de performance améliorée pour les réacteurs discontinus, probablement en raison d'un facteur principal déterminant les LR dans les tests par lots : la durée du lot. Comme le montre la Fig. 3 B, la durée du lot a un impact considérable sur la performance de réduction des agents pathogènes.

Par conséquent, le temps d'échantillonnage pour mesurer la concentration d'agents pathogènes affecte le LR résultant. La plupart des études précédentes prennent en compte le dernier point pour évaluer le LR dans les tests par lots [ 18 ].

Comme le montre la Fig. 3 , ce n'est pas nécessairement la valeur optimale. Le LR global dans les réacteurs discontinus (considérant tous les points au fil du temps) et le LR considérant uniquement le dernier point ne sont pas significativement différents.

Cependant, si le LR est calculé en considérant les concentrations d'agents pathogènes les plus faibles (entraînant le LR le plus élevé ; point optimal dans la Fig. 3 A), les réacteurs en mode discontinu surpassent les autres réacteurs.

Cela concorde avec l'hypothèse suggérant que les pics transitoires d'AGV améliorent la réduction des agents pathogènes, impliquant qu'une fois ces AGV consommés, les agents pathogènes peuvent se développer à nouveau, réduisant le LR global [ 18 ]. Ce phénomène peut être observé dans la Fig. 3 B pour les bactéries Gram-négatives (le groupe le plus vulnérable aux AGV non ionisés [ 18 ]).

Les LR optimaux ont été atteints pour des durées de lot de 21 à 30 jours, avec des valeurs décroissantes à des durées plus élevées et plus faibles. En tant que micro-organismes vulnérables mais à croissance rapide, les bactéries Gram-négatives subissent d'abord une réduction, suivie d'une croissance ensuite, une fois les AGV consommés.

Les bactéries et virus à Gram positif n'ont pas montré ce comportement, car ils sont plus résistants aux concentrations élevées d'AGV et se développent généralement plus lentement

que les bactéries à Gram négatif. Certains de ces résultats doivent être interprétés avec prudence en raison du faible nombre de données disponibles, notamment concernant les bactéries et virus à Gram positif.

Bien que les réacteurs en mode discontinu semblent offrir un avantage notable dans la réduction des agents pathogènes par rapport aux systèmes semi-continus, il est crucial de rappeler que l'objectif principal de la digestion anaérobie est la production de méthane et la génération d'un digestat stabilisé.

De ce fait, la plupart des études prennent en compte le dernier point des essais en mode discontinu (généralement quelques jours après l'atteinte du rendement maximal en méthane, donné par un « plateau » de gaz) pour le calcul de la réduction des agents pathogènes, ce qui ne correspondrait pas à la valeur optimale du LR.

Cela implique que les réacteurs ne seraient pas arrêtés au point de réduction maximale des agents pathogènes, mais une fois les AGV consommés (c'est-à-dire au point final de la figure 3 ).

Ainsi, en supposant que les pics transitoires d'AGV soient responsables de l'amélioration des performances du mode discontinu, les LR obtenus dans les systèmes (semi-)continus (fonctionnant à de faibles valeurs d'AGV) seraient similaires à ceux des réacteurs en mode discontinu. Ce sont les LR globaux qui sont présentés.

De nouveaux concepts de bioraffinerie fermentaire visant à générer d'autres produits à haute valeur ajoutée, tels que les AGV, pourraient effectivement bénéficier de cette amélioration des performances de réduction des agents pathogènes.

Dans de tels scénarios, les systèmes (semi-)continus fonctionneraient également à des concentrations élevées d'AGV, ce qui signifie que les réacteurs en mode discontinu ne seraient pas nécessairement avantageux non plus. Des recherches sont nécessaires pour confirmer ce dernier point.

Des études cinétiques devraient également être réalisées en suivant à la fois les taux de production de méthane, les productivités cumulées de méthane et la réduction des agents pathogènes afin de confirmer que les AGV sont bien responsables des performances accrues en matière de réduction des agents pathogènes et de déterminer si des conditions optimales tenant compte à la fois de la réduction des agents pathogènes et des rendements en méthane peuvent être trouvées.

En passant aux types de réacteurs, la plupart des réacteurs utilisés n'ont pas montré de différences significatives dans les LR obtenus ( Fig. 4 ).

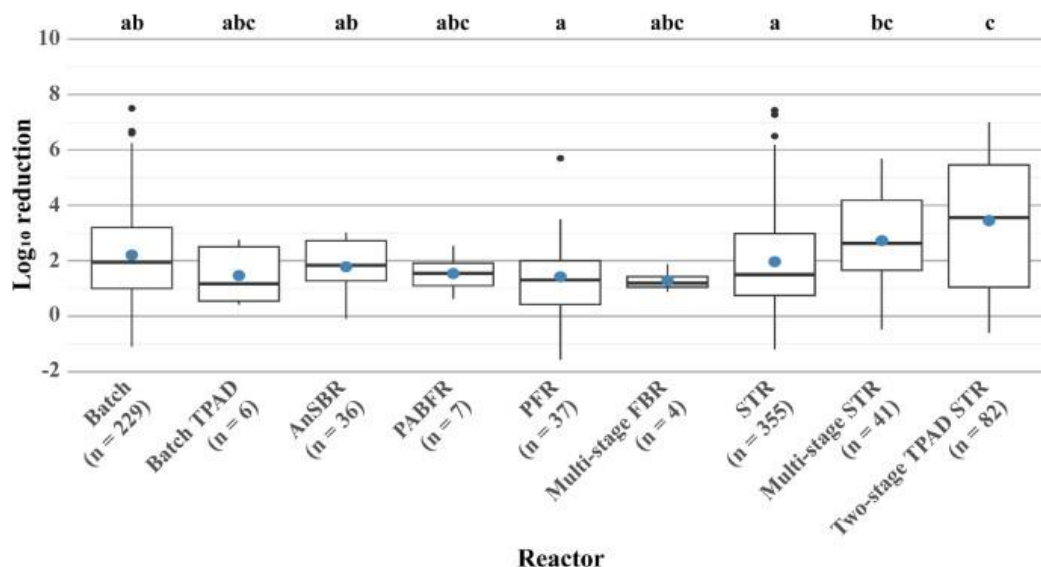


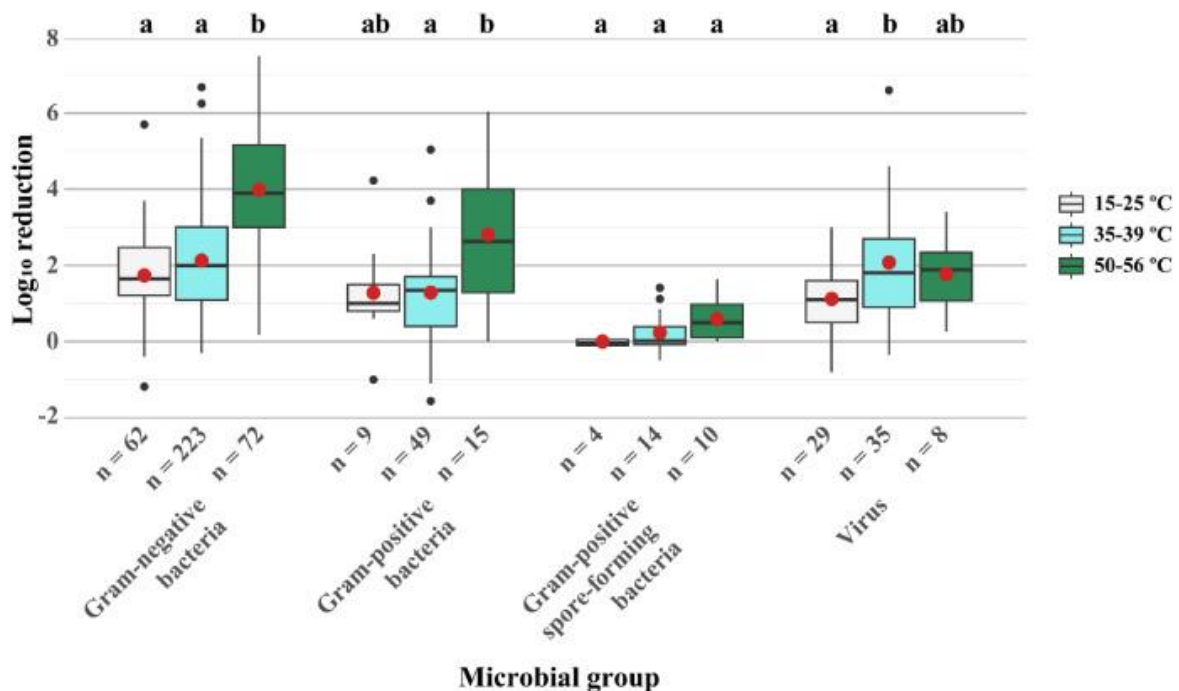
Fig. 4. Réduction globale du  $\log_{10}$  des micro-organismes pour différents types de réacteurs. Les valeurs moyennes sont représentées par des points bleus. Seuls les réacteurs avec trois valeurs indépendantes ou plus ( $n \geq 3$ ) sont présentés. Les lettres identiques au-dessus des boîtes à moustaches indiquent des groupes homogènes. TPAD signifie digestion anaérobie phasée en température, AnSBR signifie réacteur séquentiel anaérobie discontinu, PABFR signifie réacteur anaérobie à panneaux et à chicanes, PFR signifie réacteur à écoulement piston, FBR signifie réacteur à lit fixe et STR signifie réacteur à cuve agitée. n représente le nombre de points de données indépendants.

Seuls les réacteurs à cuve agitée à plusieurs étages (STR) et les STR à deux étages à température phasée (TPAD) ont montré des performances améliorées. Comme cela sera détaillé plus en détail dans les sections

### 3.6 . Impact de la température sur la réduction des agents pathogènes

La température joue un rôle crucial dans l'inactivation des pathogènes, guidant un processus complexe et multiforme. L'inactivation des pathogènes induite par la température entraîne l'altération de multiples structures cellulaires, notamment les membranes externe et interne, la paroi cellulaire du peptidoglycane, le nucloïde, l'ARN, les ribosomes et diverses enzymes. Par conséquent, déchiffrer le mécanisme spécifique conduisant à la mort cellulaire constitue un défi complexe [ 33 ].

L'influence de la température sur la réduction des agents pathogènes pendant la DA a été largement étudiée. Afin de confirmer les résultats antérieurs et d'évaluer les tendances générales, la base de données a été catégorisée selon les trois principales plages de températures associées à la DA : psychrophile (15-25 °C), mésophile (35-39 °C) et thermophile (50-56 °C). Par la suite, une analyse approfondie a été menée pour évaluer l'ampleur de la réduction des agents pathogènes au sein de chaque groupe microbien sur ces plages de températures.



La figure 5 illustre le LR des réacteurs fonctionnant en conditions psychrophiles, mésophiles et thermophiles.

Fig. 5. Réduction logarithmique  $_{10}$  des micro-organismes pour différents groupes de micro-organismes et pour différentes plages de températures.

Les valeurs moyennes sont représentées par des points rouges. Les lettres identiques au-dessus des boîtes à moustaches indiquent des groupes homogènes. n représente le nombre de points de données indépendants.

Les températures thermophiles ont entraîné des LR significativement plus élevés que les conditions psychrophiles et mésophiles pour la plupart des groupes. L'analyse a également révélé des variations dans la réduction des concentrations d'agents pathogènes parmi les groupes microbiens dans les différentes plages de température.

L'effet le plus significatif a été observé pour les bactéries Gram-négatives, montrant un LR 2,25 fois plus élevé dans les conditions thermophiles par rapport aux températures psychrophiles.

Les micro-organismes Gram-négatifs étaient suivis par les bactéries Gram-positives (différence de 1,53 fois), les virus (différence de 0,65 fois) et les bactéries Gram-positives sporulées (différence de 0,59 fois). Ces résultats sont cohérents avec les recherches précédentes, confirmant que la DA thermophile représente le choix de température le plus efficace pour l'élimination des agents pathogènes [ 17 , 18 ].

Ces résultats concordent avec les déclarations précédentes, soulignant davantage l'impact du groupe microbien ciblé sur la performance de réduction des pathogènes. L'hypothèse générale selon laquelle les bactéries Gram-positives présentent une plus grande résistance à la chaleur que les bactéries Gram-négatives [ 34 ] est clairement confirmée.

Les microorganismes sporulés Gram-positifs ont été les moins affectés par les variations de température, car les spores peuvent résister à des températures plus élevées que les cellules végétatives.

À des températures plus basses, une diminution de la LR ou même une persistance complète de pathogènes tels que *C. perfringens* , *C. botulinum* ou *C. difficile* a été observée. Une étude précédente a même documenté la croissance bactérienne pendant la DA à 27 °C, entraînant une concentration accrue de *C. perfringens* et une proportion plus faible de spores dans le digestat par rapport au substrat initial, suggérant une germination [ 35 ].

En comparant les conditions psychrophiles et mésophiles, on observe que les LR sont plus élevés uniquement pour les virus en conditions mésophiles. Pour tout autre groupe microbien, les LR obtenus sont similaires. Cela implique que l'élimination des agents pathogènes n'est pas altérée en conditions psychrophiles, car les températures mésophiles ne semblent pas suffisantes pour améliorer les LR.

### 3.7 . Impact du pH de travail sur la réduction des agents pathogènes

Le pH est un paramètre bien connu affectant la croissance microbienne . Par exemple, les variations de pH affectent l'ionisation des groupes fonctionnels d'acides aminés, entraînant une dénaturation et une diminution de l'activité des protéines.

Un pH extrêmement acide ou basique peut également provoquer respectivement la rupture de l'ADN et l'hydrolyse des lipides . Le pH affecte également plusieurs processus biologiques , tels que la force motrice des protons et de nombreuses autres réactions impliquant le renouvellement des protons.

Dans les systèmes de digestion anaérobie, l'étude de l'impact du pH est extrêmement complexe.

Non seulement le pH affecte le processus susmentionné, mais aussi la spéciation des inhibiteurs les plus courants dans les digesteurs : les AGV et l'ammoniac libre ( $\text{NH}_3$ ) [ 1 ].

Ces interactions vont dans les deux sens, car le pH affecte l'activité microbienne, mais les processus métaboliques modifient également le pH. Les AGV et le  $\text{NH}_3$  sont tous deux des produits microbiens qui affectent (et parfois déterminent) le pH dans les digesteurs.

En raison des difficultés à distinguer les effets de réduction des agents pathogènes liés au pH lui-même de ceux des AGV ou du  $\text{NH}_3$  (et en raison du manque général de données), seul l'impact global des valeurs de pH rapportées dans les milieux est abordé ici.

Des discussions autour des résultats d'articles individuels sur la réduction des agents pathogènes liés aux AGV et/ou au  $\text{NH}_3$  peuvent être trouvées ailleurs [ 14 , 15 , 18 ].

Les valeurs optimales de pH pour la plupart des micro-organismes correspondent à des valeurs neutres (c'est-à-dire autour de 7). Comme le montre la figure 6, les écosystèmes DA ne font pas exception.

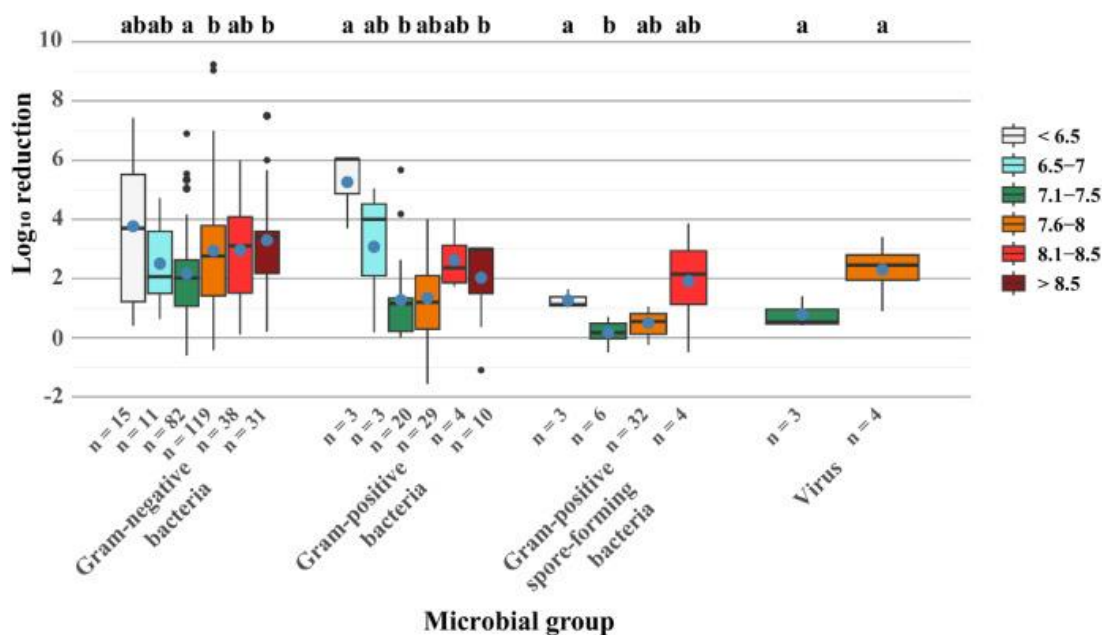


Fig. 6. Réduction logarithmique  $_{10}$  des micro-organismes pour différents groupes de micro-organismes et pour différentes plages de pH. Les valeurs moyennes sont représentées par des points bleus. Seules les conditions comportant trois valeurs indépendantes ou plus ( $n \geq 3$ ) sont présentées. Les lettres identiques au-dessus des boîtes à moustaches indiquent des groupes homogènes. n représente le nombre de points de données indépendants.

Pour tous les groupes bactériens, les LR les plus faibles ont été signalés à des plages de pH neutres (7,1–8,0). Outre la nature neutrophile des micro-organismes, des valeurs de pH proches de 7 entraînent de faibles concentrations d'AGV non ionisés (la forme toxique) et de  $\text{NH}_3$ , réduisant ainsi leur toxicité.

Les plages de pH supérieures ou inférieures à la neutralité ont entraîné des performances de réduction des agents pathogènes améliorées. Les bactéries Gram-négatives et Gram-positives suivent une tendance similaire, avec des réductions accrues à des valeurs de pH inférieures à 7,0 et supérieures à 8,0.

Les LR élevés pour les Gram-positives à faibles valeurs de pH sont particulièrement remarquables, mais le faible nombre de points de données doit également être pris en compte lors de l'extrapolation de cette observation.

En ce qui concerne la température, le groupe bactérien le plus résistant aux plages de pH non optimales est celui des bactéries Gram-positives sporulées, pour les mêmes raisons que celles mentionnées ci-dessus.

Certaines bactéries Gram-positives sporulées pathogènes sont des fermenteurs (par exemple, *Clostridium perfringens*), qui sont résistants aux acides et survivent à de faibles valeurs de pH.

Ceci est illustré à la figure 6, où ce groupe de micro-organismes présente l'impact le moins notable du pH sur les LR, en particulier à faibles valeurs. Le peu de données disponibles pour les virus compromet l'analyse impartiale des résultats obtenus.

Les concentrations variables et/ou non rapportées d'AGV/ $\text{NH}_3$  dans les études de réduction des agents pathogènes empêchent l'identification précise des phénomènes responsables de l'augmentation des LR.

La tendance générale des données de réduction des agents pathogènes suit une tendance similaire à celle illustrée à la figure 6, les plages de pH neutres (c.-à-d. 6,5–8,0) fournissant les LR les plus faibles (figure S5).

### 3.8 . Impact du temps de rétention hydraulique et du taux de charge organique sur la réduction des agents pathogènes

L'effet du HRT sur la performance de réduction des pathogènes de la DA (semi-)continue est controversé. Alors que certaines études affirment que le HRT joue un rôle majeur (voir la réf. [ 17 ] pour des exemples individuels pour différents pathogènes), d'autres n'ont observé aucun effet [ 18 ]. En rassemblant toutes les données disponibles ( Fig. 7 ), il ressort clairement de l'ensemble de données créé que le HRT en lui-même n'a pas d'impact sur les LR globaux obtenus.

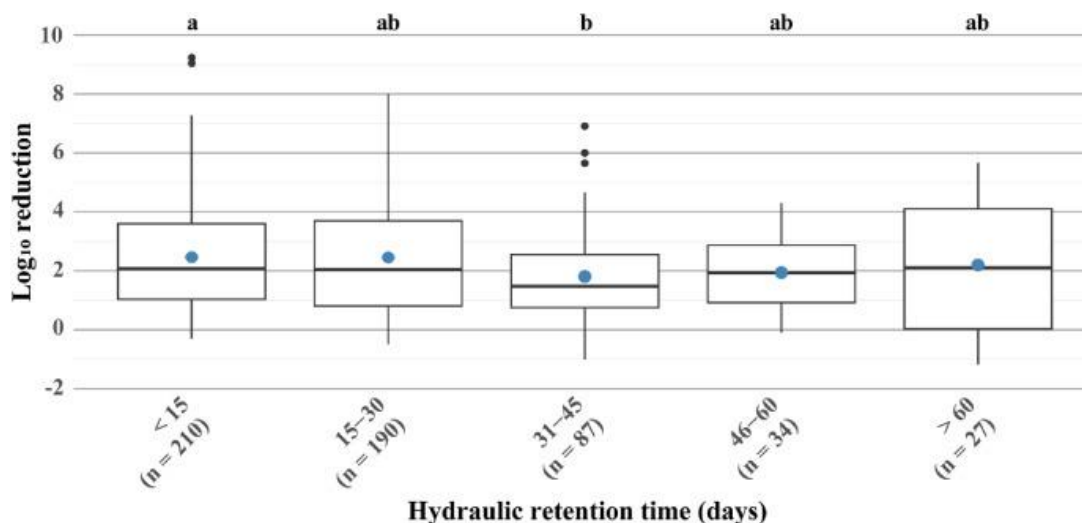


Fig. 7. Réduction globale du log 10 des micro-organismes pour différentes plages de temps de rétention hydraulique (TRH).

Les valeurs moyennes sont représentées par des points bleus. Les lettres identiques au-dessus des boîtes à moustaches indiquent des groupes homogènes. n représente le nombre de points de données indépendants.

Il est particulièrement intéressant de noter que, conformément à la réduction plus faible des bactéries Gram négatives lors de tests par lots de longue durée, les HRT longs n'ont pas entraîné de LR améliorés.

En effet, tant que le HRT est suffisamment important pour permettre une AD stable et efficace sans accumulation considérable d'AGV, les HRT plus longs n'entraîneront pas de réduction plus importante des pathogènes.

Pour les mêmes raisons que pour le HRT, l'OLR appliqué n'a pas eu d'impact significatif sur les LR obtenus ( Fig. S6 ), confirmant l'effet négligeable de ces deux paramètres.

Conformément aux affirmations précédentes, la plage d'OLR la plus basse évaluée ( $\leq 2$  g VS/L/j) n'a pas entraîné de réduction accrue des pathogènes.

En fait, la LR moyenne la plus basse a été obtenue pour cette plage, ce qui suggère que de faibles charges (ou de longs temps de rétention) n'améliorent pas la réduction des pathogènes.

Bien que cette conclusion soit contraire à certains articles expérimentaux [ 36 , 37 ], cette évaluation globale concorde avec ce qui a été observé dans une méta-analyse précédente [ 18 ], la validant et suggérant qu'elle n'est pas le résultat de biais d'échantillonnage. Les principaux mécanismes d'inactivation semblent être liés à d'autres facteurs, tels que la température de travail ou le pH.

Les temps d'inactivation associés à l'effet de ces paramètres sont beaucoup plus courts que les temps de rétention AD courants (par exemple, de l'ordre de quelques minutes à quelques heures), ce qui signifie que le temps supplémentaire fourni n'entraîne aucun avantage tangible.

### 3.9 . Prétraitements et post-traitements pour améliorer la réduction des agents pathogènes

Plusieurs méthodes de pré- et post-traitement (par exemple, alcalin, thermique, micro-ondes, ultrasons, ozonation , filtration ou irradiation) ont été évaluées pour la réduction des pathogènes du digestat [ 17 ].

Cette section présente une comparaison systématique entre les différentes approches existantes, en considérant le LR comme un indicateur de performance unique. Le couplage du pré- ou du post-traitement avec l'AD entraîne des performances de réduction des pathogènes améliorées avec une augmentation de 1,24 fois du LR lorsqu'il est couplé au prétraitement et une augmentation de 1,76 fois lorsqu'il est couplé au post-traitement ( Fig. 8 ).

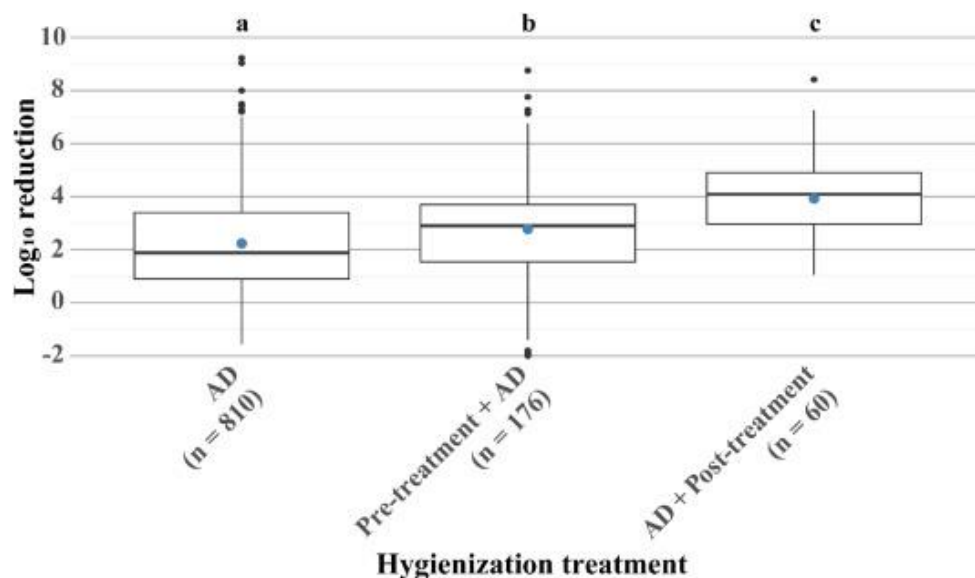


Fig. 8. Réduction globale du  $\log_{10}$  des micro-organismes pendant la digestion anaérobie, seule ou associée à des processus de pré- ou post-traitement. Les valeurs moyennes sont représentées par les points bleus.

Les lettres identiques au-dessus des boîtes à moustaches indiquent des groupes homogènes.  $n$  représente le nombre de points de données indépendants et AD pour la digestion anaérobie. Il est intéressant de noter que le post-traitement a conduit à des valeurs de LR significativement plus élevées que le pré-traitement.

Conformément aux résultats précédents, cela pourrait être dû à la recroissance des agents pathogènes pendant la DA, ce qui est évidemment évité lors de l'application de post-traitements.

Cette hypothèse est également corroborée par des valeurs de LR similaires pour les pré- et post-traitements pris individuellement, sans tenir compte de l'étape de DA ( [Fig. S7](#) ).

Un examen plus approfondi des LR pour les différents pré- et post-traitements couplés à la DA a été mené, en se concentrant sur des paramètres de traitement spécifiques. Les conditions de prétraitement ont montré une diversité considérable d'une étude à l'autre.

Par exemple, le traitement alcalin impliquait des niveaux de pH allant de 10 à 12. Le traitement thermique couvrait des températures comprises entre 60 et 160 °C, avec des durées variant de 5 min à 1 h.

Les conditions de pasteurisation (70 °C pendant 1 h) avaient tendance à être prédominantes dans ce type de prétraitement. L'énergie des ultrasons et des micro-ondes utilisée pendant le traitement a également montré une variabilité, allant de 2,4 à 27 kJ/g de solides totaux (TS). Malgré ces conditions diverses, aucune différence significative n'a été observée entre les performances de la plupart des procédés de prétraitement étudiés (c'est-à-dire alcalin, chaleur, micro-ondes, ozonation, ultrasons et ultrasons combinés à la chaleur) ( [Fig. S8](#) ).

Seuls les résultats de l'ozonation (de deux études du même groupe) ont donné des LR plus élevés. Ces résultats doivent être abordés avec prudence en raison des données limitées pour certains traitements, avec une seule étude dans certains cas, ce qui compromet l'extrapolation de résultats impartiaux.

Compte tenu des performances similaires, le choix de la technologie peut être guidé par d'autres facteurs, tels que des considérations économiques (par exemple, des coûts réduits en raison des besoins énergétiques) et/ou des aspects biologiques (par exemple, une biodégradabilité améliorée du substrat après prétraitement).

Les prétraitements thermiques apparaissent comme une option prometteuse, mettant en évidence le potentiel de bilans énergétiques positifs grâce à une production accrue de biogaz avec génération de chaleur sur site à partir de la combustion du biogaz. Ils offrent l'avantage supplémentaire de l'évolutivité, ayant été mis en œuvre avec succès à grande échelle pour le traitement des boues d'épuration, des déchets solides municipaux et des sous-produits animaux (ABP) [ 38 ]. Cependant, une attention particulière doit être accordée au devenir des micro-organismes sporulés, qui peuvent être favorisés par ces traitements.

Concernant les post-traitements, cette analyse s'est concentrée sur les processus liés à la chaleur. Les conditions de traitement variaient selon les études, avec des températures allant de 60 à 80 °C et des durées allant de 2 min à 96 h. Une fois de plus, les conditions de pasteurisation étaient prédominantes.

La pasteurisation était en effet le principal facteur de l'augmentation globale des valeurs de LR illustrées à la figure 8. Plus précisément, en se concentrant sur les traitements liés à la chaleur, qui constituent la majorité des points de données collectés, les avantages du post-traitement couplé à la DA (LR moyen  $3,92 \pm 1,43$ ) par rapport au prétraitement (LR moyen  $2,78 \pm 2,05$ )

deviennent évidents. Ainsi, la pasteurisation du digestat est préférable à la pasteurisation des substrats d'entrée (en considérant la réduction des pathogènes comme seul critère). Les besoins énergétiques de ce dernier sont évidemment plus faibles.

### 3.10 . Évaluation globale des paramètres du procédé sur la performance de réduction des agents pathogènes

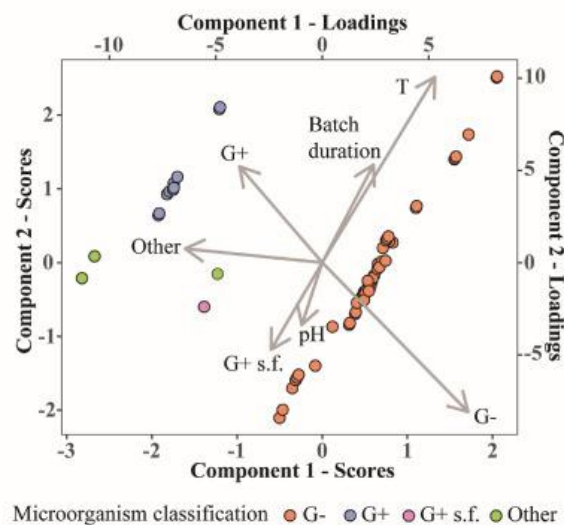
Afin de réaliser une analyse quantitative des données et de confirmer les tendances générales évoquées ci-dessus, des analyses PLS ont été réalisées en utilisant le LR comme variable de sortie et la classification des micro-organismes, la température, le pH et le HRT (pour les réacteurs (semi-)continus) ou la durée du lot (pour les réacteurs discontinus) comme variables d'entrée.

L'objectif n'était pas de développer un modèle prédictif (raison pour laquelle il n'existe pas de base de données de validation), mais d'évaluer conjointement les paramètres les plus pertinents pour l'élimination des pathogènes.

Les graphiques de score correspondants corroborent les résultats précédents ( Fig. 9 ). La classification des micro-organismes a joué un rôle majeur dans la définition des LR obtenus. Ceci est clairement visible pour les réacteurs discontinus ( Fig. 9 A), où les échantillons de bactéries Gram-négatives, de bactéries Gram-positives et d'« autres micro-organismes » sont regroupés séparément dans le graphique.

Les bactéries Gram-négatives étaient directement proportionnelles au LR, tandis que les bactéries Gram-positives, en particulier les bactéries sporulées, avaient un impact négatif sur le LR en raison de leur résistance plus élevée pendant la DA (voir les coefficients PLS dans le tableau S3 ).

**A**



**B**

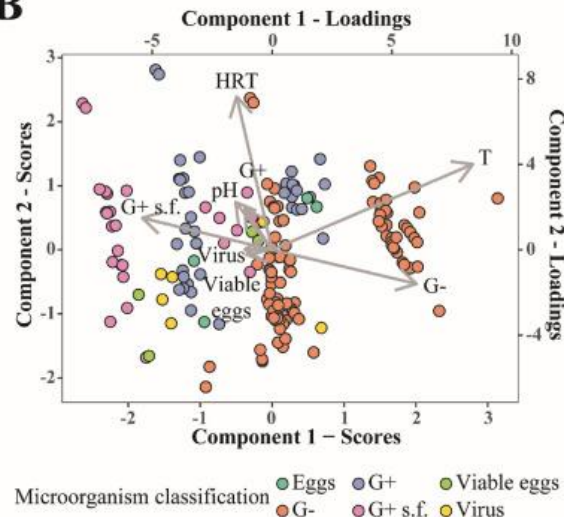


Fig. 9. Graphiques des scores PLS pour (A) les réacteurs discontinus et (B) les réacteurs (semi)continus. Les valeurs LR ont été utilisées comme variable prédite et la température (T), le pH, la durée du lot, le temps de rétention hydraulique (HRT) et la classification des micro-organismes (par exemple, bactéries Gram-négatives (G-), bactéries Gram-positives (G+), bactéries Gram-positives sporulées (G+ sf), virus, œufs, œufs viables ou autres) comme variables d'entrée.

Les deux premières composantes expliquaient 39 % (A) et 33 % (B) de la variance totale. PLS signifie moindres carrés partiels et LR signifie réduction logarithmique.

La même chose peut être observée dans les résultats pour les réacteurs (semi)continus, bien que deux sous-groupes distincts puissent être trouvés pour les groupes microbiens susmentionnés (groupes de points verticaux, parallèles à l'axe des y). Cela était dû au paramètre de température, qui, comme mentionné ci-dessus, affectait le plus la performance de réduction des pathogènes.

Ces sous-groupes pour les réacteurs (semi)continus ( [Fig. 9 B](#) ) correspondent aux systèmes psychrophiles-mésophiles (groupe vertical positionné à gauche) et thermophiles (groupe vertical positionné à droite), indiquant clairement que les systèmes thermophiles ont un comportement totalement différent, affectant positivement les LR obtenus ( [Tableau S3](#) ).

Ces deux groupes peuvent être clairement trouvés pour les bactéries Gram-négatives, les bactéries Gram-positives et les bactéries sporulées Gram-positives, confirmant l'observation similaire quel que soit le groupe microbien. Les différentes positions de ces groupes microbiens sont liées à leur résistance à la réduction des pathogènes (plus résistant à gauche, moins résistant à droite ; en accord avec la déclaration de la section [3.4](#) ).

Les coefficients PLS de température étaient toujours les plus élevés ( [tableau S3](#) ), ce qui implique que ce paramètre avait l'impact le plus élevé sur le LR (en utilisant les deux premières composantes, représentant 72 % de la variance totale). La distribution parallèle des points pour les réacteurs discontinus avec le vecteur de température souligne l'importance cruciale de ce paramètre.

Poursuivant avec la durée du lot, bien qu'elle ait moins affecté le LR que la température, elle a clairement eu un impact sur le LR résultant.

Comme mentionné dans la section [3.5](#) , les valeurs optimales du LR sont obtenues à des durées de lot intermédiaires, lorsque la réduction des agents pathogènes a été effectuée mais avant la recroissance des bactéries Gram-négatives.

Le parallélisme des vecteurs de température et de durée du lot dans [la figure 9 A](#) est une construction de la base de données. Apparemment, les tests à des températures plus élevées ont duré plus longtemps.

La raison de ce phénomène reste inconnue, car il n'y a aucune raison particulière d'effectuer des tests thermophiles sur une période plus longue. Ce phénomène a exacerbé la distribution parallèle des points autour des vecteurs de ces deux paramètres, qui étaient les plus pertinents pour les réacteurs discontinus.

Concernant le HRT dans les réacteurs (semi)continus, ce paramètre a eu un impact sur les valeurs LR prédites. Cela pourrait sembler en contradiction avec l'effet négligeable décrit dans la section [3.8](#) , mais en examinant la distribution des données le long du vecteur HRT et les scores HRT dans les deux premières composantes ( [Tableau S3](#) ), ce résultat peut être expliqué.

Pour la composante 1 (expliquant 22 % de la variance ; Tableau S4 ), le coefficient du HRT était négatif, tandis que pour la composante 2 (expliquant 11 %), le coefficient était positif (et plus élevé en valeur absolue que pour la composante 1).

Par conséquent, la tendance générale ( Fig. 7 ) a abouti à un impact négligeable du HRT, car dans certains cas, des HRT plus longs ont entraîné des LR plus élevés et dans d'autres, l'inverse s'est produit. Cette dichotomie concorde avec la littérature, où les deux conclusions ont été proposées [ 17 , 18 ].

Il a été constaté que le pH affectait négativement les LR obtenus, ce qui concorde avec l'effet positif des pH acides sur la réduction des pathogènes. Quoi qu'il en soit, l'impact global du pH sur les LR était bien inférieur à celui du type de micro-organisme ou de la température.

Les résultats de ces analyses confirment les déclarations faites dans les sections précédentes, en fournissant également des résultats numériques (par exemple, des coefficients PLS) qui peuvent être utilisés pour comparer quantitativement l'importance relative de chacun des paramètres testés sur la capacité de réduction des agents pathogènes de la MA.

### 3.11 . Digestion anaérobie pour réduire le niveau de pathogènes en dessous des limites réglementaires

Pour évaluer la conformité aux exigences réglementaires, la base de données créée a été comparée à deux réglementations pertinentes relatives aux agents pathogènes dans le domaine de la digestion anaérobie des déchets organiques (utilisées à des fins d'analyse comparative) : la réglementation sur les biosolides de classe A de l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA) (EPA/600/R-22/194) [ 13 ] et la réglementation ABP de l'UE (CE 142/2011) [ 11 ].

Cette analyse est purement comparative, car les matières premières, les lignes de traitement et les méthodes d'analyse utilisées dans les études de la base de données ne suivaient pas nécessairement les directives réglementaires pour la digestion des déchets, l'échantillonnage du digestat ou la quantification des agents pathogènes.

Le tableau 1 présente les limites des législations utilisées pour l'exercice d'analyse comparative.

Le règlement CE 142/2011 s'applique uniquement aux matériaux ABP tels que définis par le règlement CE 1069/2009 et offre deux options pour s'y conformer :

(i) des protocoles spécifiques sont suivis et les concentrations d'*E. coli*, de *Salmonella* sp. et d'Enterococcaceae sont inférieures aux limites fixées ;

ou (ii) si d'autres protocoles standard sont suivis (méthode de traitement standard 7 du règlement CE 142/2011), les concentrations d'Entérobactéries et de *C. perfringens* sont également inférieures aux limites. Le règlement de l'EPA des États-Unis relatif aux biosolides de classe A stipule explicitement que « l'objectif implicite des exigences relatives aux agents pathogènes de classe A est de réduire tous les agents pathogènes présents dans les boues d'épuration [...] à des niveaux inférieurs au seuil de détection ».

Les biosolides de classe A sont post-traités pour atteindre ces critères, permettant ainsi une « utilisation sans restriction ».

Les critères européens sont moins restrictifs que ceux de l'EPA des États-Unis car ils n'impliquent pas une utilisation sans restriction du matériau.

Plusieurs autres réglementations européennes et régionales/nationales ajoutent des critères d'innocuité supplémentaires en fonction de l'utilisation et du statut du digestat.

Tableau 1. Résumé des limites données dans les réglementations utilisées pour l'analyse comparative.

| Indicateur                     | Règlement   | Implications                                                                                                  | Limites <sup>un</sup>                                                                         | Pathogènes inclus récupérés dans la base de données                                    |
|--------------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i>        | CE 142/2011 | Exigence relative à tout résidu de digestion produit à partir de matières ABP autorisées                      | Limite inférieure : $\leq 1\ 000$ UFC dans 1 g<br>Limite supérieure : $< 5\ 000$ UFC dans 1 g | <i>Escherichia coli</i>                                                                |
| <i>Salmonella</i>              | CE 142/2011 | Exigence relative à tout résidu de digestion produit à partir de matières ABP autorisées                      | $= 0$ UFC dans 25 g                                                                           | <i>Salmonella</i> spp., <i>Salmonella typhimurium</i> ,<br><br><i>Salmonella typhi</i> |
| <i>Entérococcacées</i>         | CE 142/2011 | Exigence relative à tout résidu de digestion produit à partir de matières ABP autorisées                      | Limite inférieure : $\leq 1\ 000$ UFC dans 1 g<br>Limite supérieure : $< 5\ 000$ UFC dans 1 g | <i>Entérocoque</i> spp.                                                                |
| <i>Entérobactéries</i>         | CE 142/2011 | Exigence supplémentaire lorsque d'autres procédures standard sont suivies (méthode de traitement standard 7). | Limite inférieure : $\leq 10$ UFC dans 1 g<br>Limite supérieure : $< 300$ UFC dans 1 g        | <i>Entérobactéries</i>                                                                 |
| <i>Clostridium perfringens</i> | CE 142/2011 | Exigence supplémentaire lorsque d'autres procédures                                                           | $= 0$ UFC dans 1 g                                                                            | <i>Clostridium perfringens</i>                                                         |

| Indicateur            | Règlement        | Implications                                                                                         | Limiter <sup>un</sup> | Pathogènes inclus récupérés dans la base de données                             |
|-----------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
|                       |                  | standard sont suivies (méthode de traitement standard 7).                                            |                       |                                                                                 |
| Coliformes fécaux     | EPA/600/R-22/194 | Exigence relative aux biosolides de classe A (boues d'épuration). Utilisation illimitée du digestat. | <1000 NPP en g TS     | Coliformes fécaux                                                               |
| <i>Salmonella</i> sp. | EPA/600/R-22/194 | Exigence relative aux biosolides de classe A (boues d'épuration). Utilisation illimitée du digestat. | <3 MPN dans 4 g TS    | <i>Salmonella</i> spp., <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Salmonella typhi</i> |

\* MPN signifie nombre le plus probable, CFU signifie unité formant colonie , ABP signifie sous-produit animal et TS signifie matières solides totales.  
un

Le règlement CE142/2011 fixe le nombre de répliquats à analyser (généralement 5) et deux limites microbiennes. La limite inférieure représente la valeur seuil du nombre de bactéries. Le résultat est considéré comme satisfaisant si le nombre de bactéries dans tous les répliquats ne dépasse pas cette limite.

De plus, le règlement fixe également le nombre de répliquats pouvant être compris entre la limite inférieure et la limite supérieure (valeur maximale du nombre de bactéries).

Le résultat est également considéré comme satisfaisant si aucun des répliquats ne dépasse la limite supérieure, même si un nombre donné de répliquats se situe entre les limites inférieure et supérieure.

Dans la Fig. 10 (analyse comparative CE 142/2011), les exigences générales obligatoires de la réglementation de l'UE pour les digestats dérivés d'ABP (c'est-à-dire *E. coli*, *Salmonella* et *Enterococcaceae* ) sont comparées à la base de données collectée (pour tout type de matière première et de réacteur).

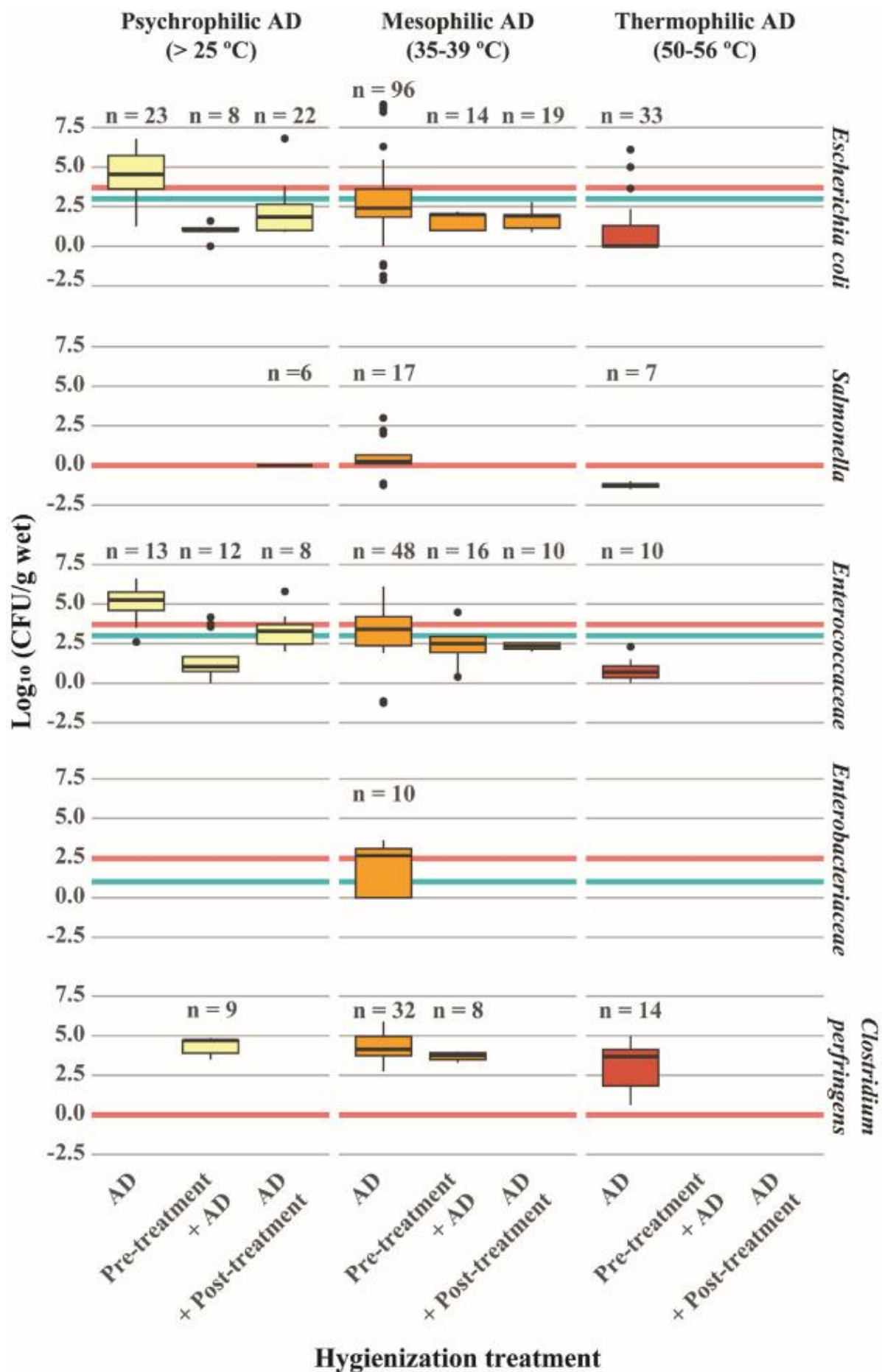


Fig. 10. Comparaison de la base de données avec les limites réglementaires de l'UE pour les SPA (CE142/2011).

La concentration dans le digestat de chaque indicateur pathogène est indiquée pour différentes températures de digestion anaérobie et en tenant compte des traitements supplémentaires (c'est-à-dire avant ou après traitement).

La ligne rouge représente la limite supérieure et la ligne bleue la limite inférieure, le cas échéant. Les limites d'absence (zéro UFC/g humide) ont été adoptées comme ci-dessous 1 à des fins graphiques.

Seules les conditions avec trois valeurs indépendantes ou plus ( $n \geq 3$ ) sont présentées. *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. et *Enterococcaceae* sont obligatoires pour les digestats de SPA, tandis qu'*Enterobacteriaceae* et *Clostridium perfringens* font partie d'une voie de conformité non obligatoire particulière. UFC signifie unités formant colonie, DA pour digestion anaérobie, SPA pour sous-produit animal et n représente le nombre de points de données indépendants.

La plupart des concentrations d' *E. coli* étaient inférieures aux limites acceptables. Seules les AD psychrophiles et quelques valeurs d'AD mésophiles, toutes deux sans aucun pré- ou post-traitement, ont donné des valeurs supérieures aux limites.

L'AD thermophile s'est avérée, comme prévu, le procédé le plus efficace pour obtenir des concentrations inférieures aux limites.

L'intégration de pré- ou post-traitements avec l'AD a assuré des digestats avec des concentrations d'*E. coli* inférieures aux limites, quelle que soit la température de l'AD. Les digestats thermophiles semblent présenter des niveaux de *Salmonella* plus faibles, ce qui est cohérent avec les résultats pour les bactéries Gram-négatives (voir Section 3.6).

Cependant, la contamination par *Salmonella* est ponctuelle, ce qui signifie que la réduction de *Salmonella* en elle-même ne devrait pas être un critère d'exclusion pour un procédé donné, car la présence de ce pathogène peut se produire très rarement.

Par conséquent, *Salmonella* doit être surveillée et les éventuels lots contaminés de digestats et de sous-produits doivent être éliminés. Concernant les *Enterococcaceae*, elles suivent la tendance observée précédemment pour la réduction des bactéries Gram-positives, avec une réduction croissante à des températures plus élevées.

En ce qui concerne *E. coli*, l'AD thermophile et l'AD mésophile couplées à des pré- ou post-traitements ont donné lieu à des concentrations inférieures aux limites de détection. En ce qui concerne les deux indicateurs appliqués lorsque d'autres méthodes standard mais dérogatoires sont utilisées (*Enterobacteriaceae* et *C. perfringens*), on peut observer que peu de données étaient disponibles pour les deux.

L'indicateur *Enterobacteriaceae* ( $n = 10$ ) n'était disponible qu'à des températures mésophiles. Les *Enterobacteriaceae* étant une grande famille de bactéries Gram-négatives (y compris *E. coli*), on pourrait s'attendre à ce que des limites acceptables soient facilement atteintes en passant à l'AD thermophile et/ou par des procédés de réduction des pathogènes si nécessaire.

En ce qui concerne *C. perfringens*, aucune des données disponibles n'a donné lieu à des valeurs acceptables car son absence est requise. *C. perfringens* est une bactérie fermentative reconnue capable d'entrer en compétition pour les substrats avec d'autres *Clostridia* couramment trouvés pendant l'AD.

Par conséquent, une attention particulière doit être accordée aux réacteurs où sa présence est détectée, car elle peut persister dans le système plutôt que d'être une occurrence transitoire [ 39 ].

Par conséquent, *C. perfringens* (ainsi que d'autres espèces pathogènes de *Clostridium* telles que *C. botulinum* ou *C. difficile*) représente une préoccupation croissante qui, étant une bactérie Gram positive sporulée, semble être mal éliminée au cours de la MA [ 40 ]. Comme on peut l'observer, la littérature manque de données sur les effets des post-traitements sur l'élimination de ce pathogène.

Étant donné le grand nombre d'études qui n'ont pas fourni les concentrations de TS dans les digestats, il n'a pas été possible de calculer les concentrations des indicateurs pour les exercices d'analyse comparative.

Cela a considérablement réduit le nombre de points dans la base de données (n). Pour surmonter ce problème, une deuxième analyse comparative a été réalisée, en supposant que, pour les études avec des teneurs en TS inconnues :

- (i) la DA humide avait des valeurs de TS de 5 %, et
- (ii) la DA sèche avait des valeurs de TS de 15 %.

Cela a permis d'augmenter considérablement le nombre de points de données ( Fig. S9 ). Les tendances observées dans la Fig. 10 ont été confirmées par cette deuxième analyse, validant davantage les conclusions données.

L'augmentation des données concernant *C. perfringens* est particulièrement pertinente, car la base de données a été considérablement élargie et les concentrations obtenues étaient toujours insatisfaisantes.

Les résultats de l'analyse comparative des biosolides de classe A de l'EPA des États-Unis (limites de haute qualité et d'utilisation sans restriction) sont présentés à la figure 11.

Les données indiquent que la plupart des digestats thermophiles seraient conformes aux critères relatifs aux coliformes fécaux et à *Salmonella* sp. La plupart des digestats psychrophiles et mésophiles de la base de données, avec ou sans pré- ou post-traitement, ne seraient pas conformes à cette norme de haute qualité.

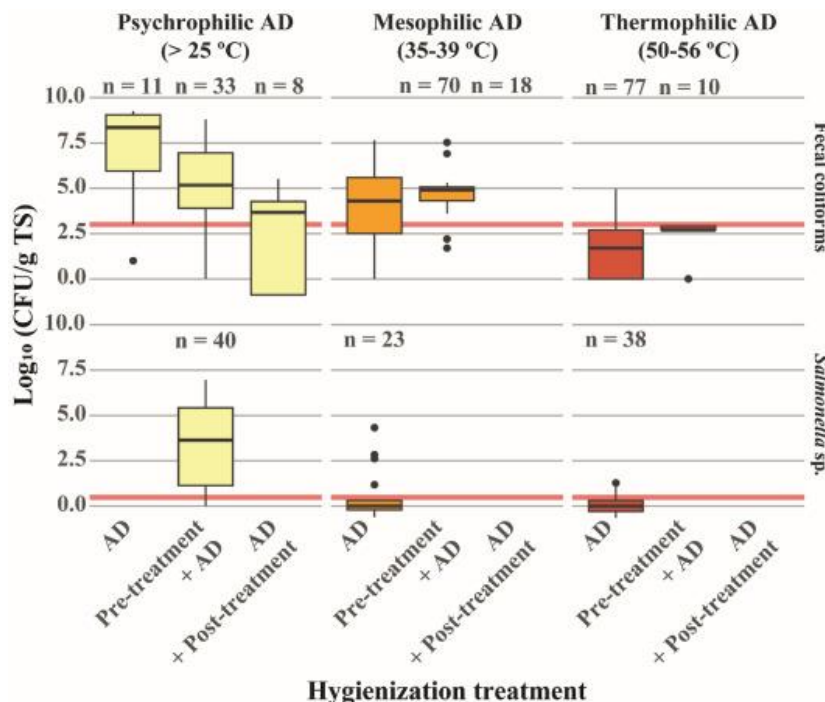


Fig. 11. Comparaison de la base de données avec les limites réglementaires de l'EPA des États-Unis pour les biosolides de classe A (EPA/600/R-22/194). La concentration dans le digestat de chaque indicateur pathogène est indiquée pour différentes températures de digestion anaérobie et en tenant compte des traitements supplémentaires (c.-à-d. avant ou après traitement).

La ligne rouge représente la limite. Seules les conditions avec trois valeurs indépendantes ou plus ( $n \geq 3$ ) sont présentées. UFC signifie unités formant colonie, TS signifie matières solides totales, AD signifie digestion anaérobie et n signifie nombre de points de données indépendants.

Concernant la comparaison avec la législation européenne, l'analyse comparative de l'EPA américaine a également été répétée en supposant les teneurs en TS mentionnées ci-dessus (5 % pour la digestion anaérobie humide et 15 % pour la digestion anaérobie sèche ( Fig. S10 )). Cette analyse a confirmé les observations extraites de la Fig. 11 , montrant les mêmes tendances et des conditions similaires permettant une réduction efficace des agents pathogènes.

Bien que la DA ne réduise pas toujours les niveaux de pathogènes en dessous des limites réglementaires, une grande partie des données respectent les seuils réglementaires les plus restrictifs. Conformément aux résultats précédents, la DA thermophile et les post-traitements ont permis de respecter les limites plus que toute autre condition de travail ou série de traitements.

#### **4. Implications pour la mise en œuvre de la technologie.**

Les deux premiers points nouveaux à souligner concernent la manière dont les tests d'évaluation des performances de réduction des pathogènes sont réalisés :

- (i) l'ajout de pathogènes entraîne une surestimation de leur élimination, et
- (ii) les indicateurs pathogènes actuels représentent fidèlement leurs groupes microbiens respectifs.

Ces deux résultats sont cruciaux, non seulement pour la recherche, mais aussi pour une évaluation efficace de la qualité et de la sécurité du digestat et pour l'optimisation des performances de réduction des pathogènes dans les digesteurs.

En tant que tendance générale, l'effet de réduction des pathogènes de la DA semble clair. Ainsi, l'application agricole de digestats semble être plus sûre que l'utilisation directe de matières premières (par exemple, le fumier).

Les cas où les indicateurs de pathogènes augmentent après la DA sont rares [ 31 ]. La réduction des pathogènes pendant la DA dépend de plusieurs facteurs, y compris le groupe microbien du pathogène (c.-à-d., bactéries Gram-négatives, bactéries Gram-positives, bactéries Gram-positives sporulées ou virus).

Par exemple, d'une part, les bactéries Gram-positives sporulées n'ont montré pratiquement aucune élimination après la DA psychrophile ou mésophile. D'autre part, les bactéries Gram-négatives ont été efficacement éliminées par la DA (par exemple, conditions thermophiles avec une amplitude interquartile de 3 à 5 Log<sub>10</sub> de réduction).

Les paramètres opérationnels influencent également les performances de réduction des agents pathogènes. Le plus important est la température.

Les digesteurs thermophiles ont enregistré les taux d'élimination les plus élevés, tandis que les digesteurs mésophiles et psychrophiles ont produit des réductions globales similaires pour la plupart des agents pathogènes.

Cela implique que, du point de vue de la réduction des agents pathogènes, l'augmentation de la température des plages psychrophiles aux plages mésophiles n'améliore pas les performances. Le pH influence également les performances de réduction des agents pathogènes, les plages neutres (couramment rencontrées dans les digesteurs) entraînant les réductions les plus faibles.

Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour étudier les effets à des pH basiques et acides et pour différencier l'impact du pH lui-même de celui des concentrations en AGV et/ou en  $\text{NH}_3$ . L'évaluation séparée de ces facteurs peut permettre de mieux comprendre le processus multifactoriel conduisant à la réduction des agents pathogènes pendant la digestion anaérobie, en particulier à fortes charges.

Des études (semi-)continues à long terme devraient également être réalisées pour prendre en compte la possibilité d'adaptation des agents pathogènes.

De nouveaux concepts de bioraffinerie fermentaire visant à générer d'autres produits à haute valeur ajoutée, tels que les AGV, pourraient également bénéficier de performances accrues en matière de réduction des agents pathogènes à faible pH. Dans ce cas, les systèmes (semi-)continus fonctionneraient également à des concentrations élevées d'AGV, ce qui implique que les performances des réacteurs discontinus ne seraient pas nécessairement supérieures à celles des réacteurs continus.

Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ce point.

En lien avec la déclaration précédente, la durée du lot a affecté la performance de réduction des agents pathogènes. Des réductions optimales ont été obtenues après 20 à 30 jours, tandis que des lots trop longs (plus de 30 à 40 jours) ont entraîné la repousse d'organismes à croissance rapide (c'est-à-dire des bactéries Gram-négatives).

Il est important de noter que pour les réacteurs (semi-)continus, ni le HRT (de 2 h à 120 jours) ni l'OLR (de 0,12 à 26,9 g VS/L/j) n'ont eu d'impact significatif sur l'élimination des agents pathogènes, ce qui implique que ces paramètres peuvent être optimisés selon d'autres critères (par exemple, la maximisation de la production de biogaz) sans affecter la performance de réduction des agents pathogènes.

La DA combinée à des pré- ou post-traitements tend à améliorer l'élimination globale des pathogènes. La plupart des procédés de prétraitement utilisés fonctionnent de manière similaire, ce qui suggère que le choix du procédé pourrait être fait en tenant compte d'autres facteurs (par exemple, économiques et/ou énergétiques).

Les procédés de post-traitement (par exemple, la pasteurisation du digestat) semblent être plus efficaces que les pré-traitements, ce qui a pu être observé même avec le bruit élevé des données regroupées.

En examinant les détails, certaines études suggèrent que dans certains cas, le prétraitement pourrait sélectionner des bactéries thermotolérantes susceptibles de se développer à nouveau dans le cadre du consortium fermentaire pendant la DA [ 41 ].

Les résultats présentés ici montrent que les régulateurs devraient viser le post-traitement comme une solution simple (par exemple, la post-pasteurisation) au lieu de favoriser à la fois les pré- et les post-traitements (comme c'est le cas général, par exemple, avec la DA des SPA dans l'UE).

La valorisation du digestat par post-traitements permettant une certaine récupération des ressources est un sujet de grand intérêt scientifique et industriel, car elle peut constituer un levier pour garantir la performance économique de la méthanisation. L'effet de nouveaux post-traitements (par exemple, stripping de l'azote, récupération de la struvite, évaporation (sous vide) ou séchage thermique amélioré) sur l'élimination globale des pathogènes devrait

être davantage pris en compte comme un avantage supplémentaire potentiel de ces technologies.

Un bon indicateur de ce manque d'activité de recherche est qu'aucune étude de la présente méta-analyse ne s'inscrivait dans une approche de valorisation du digestat post-traitement telle que celles mentionnées ci-dessus.

Indépendamment des traitements de réduction des pathogènes utilisés, l'analyse comparative des concentrations finales de pathogènes dans le digestat selon deux critères de qualité très distincts a permis de conclure que la plupart des digestats thermophiles étaient conformes aux normes les plus élevées, tandis qu'un post-traitement (par exemple, la pasteurisation) est fortement recommandé pour les digestats mésophiles/psychrophiles. Les conditions thermophiles entraînent des besoins énergétiques plus élevés, mais cela pourrait être compensé par une productivité accrue du biogaz [ 42 ] et par une application sûre des digestats sur les terres.

En ce qui concerne la réduction des pathogènes, les systèmes en deux étapes ne sont pas recommandés, car l'élimination des pathogènes ne se produit de manière significative qu'au stade thermophile.

L'absence d'études utilisant des méthodes moléculaires (par exemple, la réaction en chaîne par polymérase quantitative (qPCR)) analysant la réduction des agents pathogènes pendant la digestion anaérobie empêche leur inclusion dans la méta-analyse.

Ce manque de recherche peut être attribué aux législations pertinentes relatives aux agents pathogènes, qui établissent les méthodes basées sur la culture comme la norme pour l'étude des concentrations d'agents pathogènes dans les digestats.

Malgré cette limitation, le potentiel des méthodes moléculaires comme alternative aux méthodes basées sur la culture ne peut être négligé. Les méthodes moléculaires offrent l'avantage d'explorer un spectre plus large de micro-organismes, mais elles présentent également l'inconvénient de détecter potentiellement des micro-organismes non viables (par exemple, du matériel génétique libre présent dans le milieu).

Bien que la tendance à la réduction des agents pathogènes ait été constatée similaire entre les méthodes basées sur la culture et les méthodes moléculaires dans la base de données (données non présentées), il est important de souligner que les LR observés lors de l'utilisation de la qPCR étaient généralement plus faibles (probablement en raison du séquençage du matériel génétique des cellules mortes). Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour extrapoler les résultats de différentes approches méthodologiques à des installations à grande échelle.

Globalement, l'analyse systématique de la réduction des pathogènes a permis d'ouvrir plusieurs perspectives pour la R&D. Pour certains groupes microbiens, la digestion anaérobie peut être optimisée grâce à des leviers de procédés conventionnels (par exemple, la température) afin d'améliorer l'élimination des pathogènes s'ils deviennent limitants pour l'application du digestat.

C'est le cas des bactéries à Gram négatif. D'autres pathogènes, comme *C. perfringens*, représentent un défi qui doit être abordé spécifiquement.

Il semble donc pertinent d'étudier les leviers du processus de méthanisation pour le contrôle des pathogènes au moyen d'études au cas par cas, en fonction de contextes spécifiques (c'est-à-dire un ensemble donné de matières premières, de digestats et de groupes de pathogènes).

Malgré l'impact positif généralement reconnu de la méthanisation, il convient de noter que, notamment pour les scénarios agricoles, la perspective pratique des entrées/sorties de

méthanisation (sélection des flux uniquement sur la base de considérations économiques) néglige l'impact global d'une usine de méthanisation (et les risques sanitaires associés) sur l'évolution des pratiques opérationnelles courantes, telles que la mutualisation et l'échange de flux.

Dans ce contexte, l'impact de la méthanisation peut varier, être positif ou négatif, selon les pratiques de base, leur évolution et le respect des réglementations. Ces aspects cruciaux dépassent le cadre de la présente étude.

Enfin, il convient de mentionner qu'en l'absence de données issues d'usines à grande échelle, les résultats présentés ici doivent être extrapolés avec prudence aux installations de grande taille. Les tendances concernant l'impact de variables telles que le pH, la température et/ou les groupes microbiens devraient être similaires quelle que soit l'échelle.

Cependant, les résultats obtenus avec des réacteurs discontinus et (semi)continus pourraient déjà différer aux échelles laboratoire, pilote et industrielle (résultats non présentés). Il faut donc s'attendre à ce que l'extrapolation des LR des réacteurs discontinus à l'échelle laboratoire aux procédés à grande échelle (généralement (semi)continus) entraîne des surestimations des capacités de réduction (même en l'absence de dopage des pathogènes allochtones). S'agissant d'un travail basé sur une analyse des données disponibles, les conclusions de cette étude sont limitées par la quantité de données pouvant être collectées, leur précision et leur répétabilité. De même, il n'a pas été possible de différencier des scénarios spécifiques, car la quantité de données pour chaque cas serait insuffisante, ce qui aurait conduit à des conclusions biaisées.

## 5. Conclusions

La méta-analyse réalisée a abouti à des conclusions nouvelles et pertinentes pour la DA, tant à l'échelle de la recherche qu'à grande échelle.

Le volume important de données collectées et l'analyse systématique des données ont permis d'obtenir une vision globale de la capacité de réduction des pathogènes de la DA.

Lors de la conception d'expériences visant à évaluer la performance de la DA en matière de réduction des pathogènes, l'ajout artificiel de pathogènes entraîne une surestimation des performances, rendant ainsi les résultats impossibles à extrapoler à des systèmes à grande échelle.

Il est important de noter que les indicateurs pathogènes actuels représentent fidèlement leurs groupes respectifs.

Les Clostridiacées sont peu affectées par la DA et pourraient être favorisées par certaines technologies de prétraitement.

Concernant les paramètres opérationnels, la température est le paramètre qui affecte le plus significativement la performance de réduction des pathogènes.

La DA thermophile a permis une meilleure élimination des pathogènes, les conditions psychrophiles et mésophiles entraînant des performances significativement inférieures.

Le pH a également affecté l'élimination des pathogènes, les valeurs acides et basiques augmentant les LR. Ceci est probablement dû à une combinaison de l'effet du pH lui-même et des concentrations de composés inhibiteurs affectant également le pH (par exemple, les AGV ou  $\text{NH}_3$  /  $\text{NH}_4^+$ ).

Une durée de lot optimale a été identifiée, mais le HRT dans les systèmes (semi-)continus n'a pas amélioré la réduction globale des pathogènes, ce qui implique que les valeurs HRT/OLR peuvent être définies en fonction des taux de production de méthane souhaités. Les

post-traitements thermiques couplés à la digestion anaérobie thermophile ont donné les meilleures performances de réduction des pathogènes. Ces conditions ont respecté la plupart des limites légales.

Des recherches supplémentaires devraient se concentrer sur l'optimisation multifactorielle des procédés, en tenant compte des liens entre différents facteurs (p. ex., pH, AGV et concentrations de NH<sub>3</sub>) et en développant des modèles mathématiques qui permettent l'optimisation et l'évaluation de scénarios.

L'impact de nouveaux post-traitements permettant la récupération des ressources (p. ex., stripping de l'azote, évaporation ou séchage thermique amélioré) sur l'élimination globale des pathogènes devrait également être étudié plus en détail.

## Financement

Ce travail a été soutenu par le projet Biogaz RIO (n° [24001371](#)) financé par la Région Occitanie et le Fonds Européen de Développement Régional ( FEDER ).

Déclaration d'intérêts concurrents

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts.

## Remerciements

Laura Álvarez-Fraga remercie le programme de recherche et d'innovation Horizon 2020 de l'Union européenne pour son soutien à travers la convention de subvention Marie Skłodowska-Curie n° [101108532](#). Les auteurs souhaitent remercier l'INRAE Bio2E Facility [ [43](#) ].

Annexe A. Données supplémentaires

Téléchargez tous les fichiers supplémentaires inclus avec cet article

[Qu'est-ce que c'est ça?](#)

Voici les données complémentaires à cet article : [Télécharger](#) : [Télécharger le document Word \(2 Mo\)](#)

Composante multimédia 1 .

[Télécharger](#) : [Télécharger la feuille de calcul \(1 Mo\)](#)

Composante multimédia 2 .

Disponibilité des données

La base de données complète utilisée dans cette méta-analyse est disponible sur le référentiel de données de recherche Mendeley sous l'identifiant d'objet numérique (DOI) : [10.17632/3m9ph7j578.2](#).

Références

1. [1]

G. Capson-Tojo , M. Rouez , M. Crest , J.-P. Steyer , J.-P. Delgenès , R. Escudié  
Valorisation des déchets alimentaires par des procédés anaérobies : une revue de la littérature  
Rev Environ Sci Bio/Technology , 15 ( 2016 ) , pp. 499 - 547 , [10.1007/s11157-016-9405-y](#)  
[Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

2. [2]

F. Guilayn , M. Rouez , M. Crest , D. Patureau , J. Jimenez  
Valorisation des digestats issus d'installations de biogaz urbaines ou centralisées : une revue critique , vol. 19 , Springer , Pays-Bas ( 2020 ) , [10.1007/s11157-020-09531-3](#)  
[Google Scholar](#)

3. [3]

Association mondiale du biogaz  
Biogaz : perspectives d'avenir à l'horizon 2030 - rapport  
( 2021 )  
[Google Scholar](#)

4. [4]

Commission européenne  
Plan REPowerEU  
( 2022 )  
[Google Scholar](#)

5. [5]

F. Guilayn , G. Capson-Tojo  
Gestion du digestat anaérobie : une introduction  
Anaérobie. Creuser. Gérer. , Éditions IWA ( 2022 ) , pp. 1 - 24 , [10.2166/9781789062755\\_0001](#)  
[Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

6. [6]

F. Guilayn , J. Jimenez , M. Rouez , M. Crest , D. Patureau  
Séparation mécanique du digestat : profils d'efficacité en fonction de la matière première de digestion anaérobie et du choix de l'équipement  
Bioresour Technol , 274 ( 2019 ) , pp. 180 - 189 , [10.1016/j.biortech.2018.11.090](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.090)  
[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

7. [7]

Association mondiale du biogaz  
Potentiel mondial du biogaz  
( 2019 )  
[Google Scholar](#)

8. [8]

R. Nag , P. Whyte , BK Markey , V. O'Flaherty , D. Bolton , O. Fenton et *al.*  
Classement des dangers liés à l'épandage de digestats anaérobies pour la santé humaine  
Sci Total Environ , 710 ( 2020 ) , Article 136297 , [10.1016/j.scitotenv.2019.136297](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136297)  
[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

9. [9]

R. Nkoa  
Avantages agricoles et risques environnementaux de la fertilisation des sols avec des digestats anaérobies : une revue  
Agron Sustain Dev , 34 ( 2014 ) , pp. 473 - 492 , [10.1007/s13593-013-0196-z](https://doi.org/10.1007/s13593-013-0196-z)  
[Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

10. [10]

Commission européenne  
Règlement (CE) n° 1069/2009 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et abrogeant le règlement (CE) n° 1774/2002 (règlement relatif aux sous-produits animaux)  
Off J Eur Union , L300 ( 2009 ) , pp. 1 - 33  
[Google Scholar](#)

11. [11]

Commission européenne  
Règlement (UE) n° 142/2011 de la Commission établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et portant application de la directive 97/78/CE du Conseil en ce qui concerne certains échantillons et articles  
Off J Eur Union , L54 ( 2011 ) , pp. 1 - 254  
[Google Scholar](#)

12. [12]

Administration de normalisation de la République populaire de Chine. GB 7959-2012  
Exigences d'hygiène pour l'élimination sans danger des matières fécales  
Administration de normalisation de la République populaire de Chine ( 2012 ) , pp. 2 - 3  
[Google Scholar](#)

13. [13]

L. Boczek , R. Herrmann , E. Resek , T. Richman  
Agents pathogènes et attraction des vecteurs dans les boues d'épuration  
( 2023 )  
EPA/600/R-22/194  
[Google Scholar](#)

14. [14]

Q. Zhao , Y. Liu  
La digestion anaérobie est-elle une barrière fiable pour la désactivation des agents pathogènes dans les boues biologiques ?  
Sci Total Environ , 668 ( 2019 ) , pp. 893 - 902 , [10.1016/j.scitotenv.2019.03.063](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.063)  
[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

15. [15]

M. Lin , A. Wang , L. Ren , W. Qiao , SM Wandera , R. Dong  
Défis de l'inactivation des agents pathogènes dans le fumier animal par digestion anaérobie : une brève revue  
Bioingénierie , 13 ( 2022 ) , pp. 1149 - 1161 , [10.1080/21655979.2021.2017717](https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2017717)  
[Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

16. [16]

M. Planchon , I. Deportes , S. Chouvinc , A. Koite , A. Plantivaux  
Survie des agents pathogènes d'origine alimentaire lors du traitement biologique des déchets. Ce que nous savons et ce que nous devons savoir.

17. [17]

M. Guiling , C. Yanting , N. Pius

Le processus de digestion anaérobie désactive les principaux agents pathogènes présents dans les biodéchets : une méta-analyse

Renouveler Sustain Energy Rev , 153 ( 2022 ) , article 111752 , [10.1016/J.RSER.2021.111752](#)

[Google Scholar](#)

18. [18]

Y. Jiang , SH Xie , C. Dennehy , PG Lawlor , ZH Hu , GX Wu et *al.*

Inactivation des agents pathogènes dans les systèmes de digestion anaérobie pour la conversion des biodéchets en bioénergie : une revue

Renouveler et soutenir l'énergie Rev , 120 ( 2020 ) , Article 109654 , [10.1016/j.rser.2019.109654](#)

[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

19. [19]

L. Álvarez-Fraga , G. Capson-Tojo , M. Sanglier , J. Hamelin , R. Escudié , N. Wéry , *et al.*

Une méta-analyse pour optimiser la réduction des agents pathogènes lors de la digestion anaérobie

Base de données , Données Mendeley, V2 ( 2024 ) , [10.17632/3m9ph7j578.2](#)

[Google Scholar](#)

20. [20]

Équipe principale de R

Un langage et un environnement pour le calcul statistique

Fondation R pour le calcul statistique , Vienne, Autriche ( 2023 )

[Google Scholar](#)

21. [21]

K. Liland , B. Mevik , R. Wehrens

S'il vous plaît : régression par les moindres carrés partiels et en composantes principales , 2 , version du package R ( 2023 )

8-3

[Google Scholar](#)

22. [22]

H. Wickham

ggplot2 : graphiques élégants pour l'analyse de données

Springer-Verlag , New York ( 2016 )

[Google Scholar](#)

23. [23]

A. Arraj , J. Bohatier , H. Laveran , O. Traoré

Comparaison de l'élimination des bactériophages et des virus entériques dans les stations pilotes de boues activées

J Appl Microbiol , 98 ( 2005 ) , pp. 516 - 524 , [10.1111/j.1365-2672.2004.02485.x](#)

[Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

24. [24]

Commission européenne

Règlement (UE) 2019/1009 établissant les règles relatives à la mise à disposition sur le marché des fertilisants UE et modifiant les règlements (CE) n° 1069/2009 et (CE) n° 1107/2009 et abrogeant le règlement (CE) n° 2003/2003 , L 170/1 , De J Eur Union ( 2019 )

[Google Scholar](#)

25. [25]

Commission européenne

Directive (UE) 2020/2184 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2020 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine

Arrêt J Eur Union , L 435/1 ( 2020 )

[Google Scholar](#)

26. [26]

T.J. Silhavy , D. Kahne , S. Walker

L'enveloppe cellulaire bactérienne

Cold Spring Harb Perspect Biol , 2 ( 2010 ) , Article a000414 , [10.1101/cshperspect.a000414](#)

[Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

27. [27]

G. Saldaña , S. Monfort , S. Condón , J. Raso , I. Álvarez

Effet de la température, du pH et de la présence de nisine sur l'inactivation de Salmonella Typhimurium et d'Escherichia coli O157:H7 par des champs électriques pulsés

Food Res Int , 45 ( 2012 ) , pp. 1080 - 1086 , [10.1016/j.foodres.2011.03.059](#)

[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

28. [28]

K. Fisher , C. Phillips

L'écologie, l'épidémiologie et la virulence d'*Enterococcus*

Microbiologie , 155 ( 2009 ) , pp. 1749 - 1757 , [10.1099/mic.0.026385-0](#)

[Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

29. [29]

KH Chan , JSM Peiris , SY Lam , LLM Poon , KY Yuen , WH Seto

Les effets de la température et de l'humidité relative sur la viabilité du coronavirus du SRAS

Adv Virol , 2011 ( 2011 ) , Article 734690 , [10.1155/2011/734690](#)

[Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

30. [30]

G. Kotwal , JL Cannon

Persistance environnementale et transfert des virus entériques

Curr Opin Virol , 4 ( 2014 ) , pp. 37 - 43 , [10.1016/j.coviro.2013.12.003](#)

[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

31. [31]

J. Subirats , H. Sharpe , E. Topp

Devenir des Clostridia et d'autres bactéries sporulées Firmicute lors de la digestion anaérobie des matières premières et du compostage aérobie

J Environ Manage , 309 ( 2022 ) , [10.1016/j.jenvman.2022.114643](#)

[Google Scholar](#)

32. [32]

P. Setlow

Propriétés de résistance des spores

Microbiol Spectr , 2 ( 2014 ) , [10.1128/microbiolspec.TBS-0003-2012](#)

[Google Scholar](#)

33. [33]

G. Cebrián , S. Condón , P. Mañas

Physiologie de l'inactivation des bactéries végétatives par traitements thermiques : mode d'action, influence des facteurs environnementaux et cinétique d'inactivation

Aliments , 6 ( 2017 ) , [10.3390/foods6120107](#)

[Google Scholar](#)

34. [34]

MJ James

Conservation des aliments à haute température et caractéristiques des micro-organismes thermophiles

Mod. food Microbiol ( 1992 ) , pp. 347 - 369

4e éd., New York, NY, États-Unis

[Vue Crossref dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

35. [35]

C. Le Maréchal , C. Druilhe , E. Reperant , E. Boscher , S. Rouxel , S. Le Roux , *et al.*

Évaluation de la présence de bactéries pathogènes sporulées et non sporulées dans le fumier et le digestat de cinq installations de biogaz agricoles

Microbiol Open , 8 ( 2019 ) , [10.1002/mbo3.872](#)

[Google Scholar](#)

36. [36]

Y. Chen , B. Fu , Y. Wang , Q. Jiang , H. Liu

Performances du réacteur et élimination des agents pathogènes bactériens en réponse au temps de rétention des boues dans un digesteur anaérobie mésophile traitant les boues d'épuration

Bioresour Technol , 106 ( 2012 ) , pp. 20 - 26 , [10.1016/j.biortech.2011.11.093](#)

[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

37. [37]

ND Manser , JR Mihelcic , SJ Ergas

Performances du digesteur anaérobie mésophile semi-continu en fonction des variations du temps de rétention des solides et de la fréquence d'alimentation

Bioresour Technol , 190 ( 2015 ) , pp. 359 - 366 , [10.1016/j.biortech.2015.04.111](#)

[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

38. [38]

H. Carrere , G. Antonopoulou , R. Affes , F. Passos , A. Battimelli , G. Lyberatos , *et al.*

Examen des stratégies de prétraitement des matières premières pour une digestion anaérobie améliorée : de la recherche en laboratoire à l'application à grande échelle

Bioresour Technol , 199 ( 2016 ) , pp. 386 - 397 , [10.1016/j.biortech.2015.09.007](#)

[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

39. [39]

LC Skillman , O. Bajsa , L. Ho , BMK Santhanam , G. Ho  
Influence de la production élevée de gaz lors de la digestion anaérobie thermophile dans des réacteurs à l'échelle pilote et à l'échelle du laboratoire sur la survie des pathogènes thermotolérants *Clostridium perfringens* et *Campylobacter jejuni* dans les eaux usées des porcheries  
Water Res , 43 ( 2009 ) , pp. 3281 - 3291 , [10.1016/j.watres.2009.04.031](https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.04.031)  
[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

40. [40]

C. Le Maréchal , C. Druilhe , E. Repérant , E. Boscher , S. Rouxel , S. Le Roux , *et al.*  
Évaluation de la présence de bactéries pathogènes sporulées et non sporulées dans le fumier et le digestat de cinq installations de biogaz agricoles  
Microbiologie ouverte , 8 ( 2019 ) , p. e872 , [10.1002/mbo3.872](https://doi.org/10.1002/mbo3.872)  
[Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

41. [41]

L. Derongs , D. Céline , L. Caroline , B. Frédéric , H. Lorette , B. Julie , *et al.*  
Influence des conditions opératoires sur la persistance d'*E. coli*, d'Entérocoques, de *Clostridium perfringens* et de *Clostridioides difficile* dans les réacteurs anaérobies mésophiles semi-continus  
Gestion des déchets , 134 ( 2021 ) , pp. 32 - 41 , [10.1016/j.wasman.2021.08.003](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.08.003)  
[Google Scholar](#)

42. [42]

K.-H. Phan , A.-T. Nguyen , S.-L. Le , T.-M. Ngo , TN-D. Cao , T.-T. Nguyen *et coll.*  
Digestion anaérobie thermophile et méthodes émergentes de traitement des déchets organiques : une revue  
Bioresour Technol Reports , 22 ( 2023 ) , article 101402 , [10.1016/j.biteb.2023.101402](https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101402)  
[Voir le PDF](#)[Voir l'article](#) [Voir dans Scopus](#) [Google Scholar](#)

43. [43]

Bio2E INRAE  
Installation de biotechnologie environnementale et de bioraffinerie  
<https://doi.org/10.15454/1.557234103446854E12> (2018)  
[Google Scholar](#)

Cité par (2)

- [Digestion anaérobie améliorée par hydrolyse biothermique pour l'inactivation des agents pathogènes dans le lisier de porc à haute teneur en solides : efficacité et mécanismes](#)

2025, Revue de génie chimique

Afficher le résumé

- [La gestion du fumier comme outil potentiel d'atténuation pour éliminer les émissions de gaz à effet de serre dans les systèmes d'élevage](#)

2025, Durabilité Suisse

1

Les deux auteurs ont contribué de manière égale.