

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 3 février 2014

## **AVIS** **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

**relatif à « la question de l'épandage des boues et de la gestion du risque lié aux agents transmissibles non conventionnels (ATNC) »**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont rendus publics.*

---

L'Anses a été saisie le 21/05/2012 par la Direction générale de la prévention des risques, la Direction générale de l'aménagement, du logement et de la nature et la Direction Générale de la Santé pour la réalisation de l'expertise suivante : « Demande d'avis relatif à la question de l'épandage des boues et de la gestion du risque lié aux agents transmissibles non conventionnels (ATNC) »

### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

En septembre 2003, l'Afssa avait rendu l'avis «Risques sanitaires au regard de l'ESB liés aux rejets dans l'environnement des effluents et boues issus d'abattoirs et d'équarrissages». Dans cet avis, l'Afssa avait notamment examiné le risque associé aux effluents d'abattoirs en s'intéressant aux fragments de tissus à risque susceptibles d'être disséminés aux différentes étapes de la chaîne d'abattage.

En 2008, une modification de la réglementation des installations classées a notamment levé l'obligation d'un traitement thermique (133°C/3bar/20mn) des effluents des établissements traitant des sous produits de catégorie 1 et 2<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Arrêté du 25 avril 2008 modifiant l'arrêté du 12 février 2003 relatif aux prescriptions applicables aux installations classées soumises à autorisation sous la rubrique 2730 (traitement de sous-produits animaux d'origine animale) et Arrêté du 25 avril 2008 modifiant l'arrêté du 12 février 2003 relatif aux prescriptions applicables aux installations classées soumises à autorisation sous la rubrique 2731 (dépôts de chairs, cadavres, débris ou issues d'origine animale, à l'exclusion des dépôts de peaux).

Ultérieurement, dans son avis du 19 mai 2010<sup>2</sup>, l'Afssa a recommandé de maintenir un traitement thermique (133°C/3 bar/20 mn) aux effluents issus d'installations traitant des sous-produits de catégories C1/C2, si ces effluents étaient utilisés pour l'irrigation de cultures destinées à l'alimentation humaine ou animale.

Suite à cet avis, l'obligation du traitement thermique des effluents, issus d'installations traitant des sous-produits de catégories C1/C2 et utilisés pour l'irrigation des cultures et des espaces verts, a été de nouveau instaurée<sup>3</sup>.

Au regard des considérants sur les dangers liés au prion figurant dans l'avis du 19 mai 2010, l'Anses a été saisie afin d'évaluer les risques lors de l'épandage des boues issues des stations d'épuration urbaines ou privées recevant des effluents issus d'établissements, y compris abattoirs, traitant ou manipulant des sous produits animaux de catégorie C1.

En effet, la réglementation nationale<sup>4</sup> actuelle prévoit que, pour les installations traitant des sous-produits de catégorie 1 ou 2, « *les boues issues du traitement des effluents soient retraitées dans le circuit de traitement des sous-produits de catégorie 1 ou de catégorie 2, selon l'origine des boues, ou, en cas de mélange, dans le circuit de traitement des sous-produits de catégorie 1* ». Néanmoins, par dérogation préfectorale, et dans la mesure où l'exploitant s'assure que ces boues ne représentent pas un risque pour la santé humaine, la santé animale et l'environnement, ces boues peuvent être épandues.

Les boues issues du traitement des effluents d'abattoirs peuvent également être valorisées par la pratique de l'épandage<sup>5</sup>.

Par ailleurs, certains travaux scientifiques récents de modélisations quantitatives suggèrent que le risque lié aux effluents d'abattoir ou d'équarrissage serait très faible (Adkin *et al.*, 2013).

Il a été demandé au GT :

- d'analyser les travaux d'Adkin *et al.* (2013) ;
- de réactualiser les conclusions de l'évaluation quantitative de risque portant sur les effluents d'abattoir dans l'avis « Risques sanitaires au regard de l'ESB liés aux rejets dans l'environnement des effluents et boues issus d'abattoirs et d'équarrissages » de septembre 2003. La part relative du risque présentée par des abattoirs raccordés à des stations d'épuration urbaines par rapport à l'ensemble des ateliers de boucheries qui manipuleraient certains tissus à risque devra être examinée ;
- d'évaluer le risque prion lié aux boues issues du traitement des effluents des installations classées soumises à autorisation sous la rubrique 2730 (traitement des cadavres, des déchets ou des sous-produits d'origine animale à l'exclusion des activités visées par d'autres rubriques de la nomenclature), en cohérence avec l'avis 2009-SA-0288 de l'Afssa du 19 mai 2010 ;
- en conclusion, de préciser si l'application de la réglementation actuelle de la nomenclature ICPE 2730 relative à ces boues entraîne un risque significatif de dissémination des prions.

<sup>2</sup> Avis de l'Afssa relatif à l'évaluation des risques sur les effluents issus des établissements de transformation de sous-produits animaux de catégories 1, 2 ou 3 à des fins de réutilisation pour l'irrigation des cultures destinées à la consommation humaine ou animale en date du 19 mai 2010.

<sup>3</sup> Arrêté du 2 août 2010 relatif à l'utilisation d'eaux issues du traitement d'épuration des eaux résiduelles urbaines pour l'irrigation de cultures ou d'espaces verts

<sup>4</sup> Arrêté du 12/02/03 relatif aux prescriptions applicables aux installations classées soumises à autorisation sous la rubrique 2730 (traitement des cadavres, des déchets ou des sous-produits d'origine animale à l'exclusion des activités visées par d'autres rubriques de la nomenclature).

<sup>5</sup> Arrêté du 30 avril 2004 relatif aux prescriptions applicables aux installations classées pour la protection de l'environnement soumises à autorisation sous la rubrique n° 2210 « abattage d'animaux ».

## 2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NFX 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'Anses a confié l'expertise au groupe de travail «EST». Sur la base d'un rapport initial rédigé par 4 rapporteurs ; les analyses et conclusions du groupe de travail ont été validées le 11 décembre 2013.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

Cette expertise a été conduite sur la base de l'examen :

- des travaux d'Adkin *et al.* (2013) ainsi que des nouvelles publications scientifiques depuis l'avis du 19 mai 2010 concernant le risque environnemental du prion,
- des précédents travaux de l'Afssa (avis de septembre 2003 et du 19 mai 2010),
- des dossiers, fournis par le Ministère de l'environnement ou de la préfecture concernée, relatifs à certaines installations industrielles qui ont fait l'objet d'une dérogation préfectorale à la réglementation ICPE 2730.

## 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT « EST »

Les matériaux à risque spécifiés (MRS) chez les ruminants concentrent l'essentiel des agents responsables des EST chez ces animaux. Le retrait des MRS a été instauré pour protéger le consommateur d'une exposition potentielle à ces agents.

Les MRS sont collectés dans les abattoirs, les ateliers de découpe industriels et les boucheries, et sont transformés dans des installations traitant des matières dites de catégorie 1 (établissements de transformation de catégorie 1). Ces installations de transformation de catégorie 1 reçoivent également :

- 1- des cadavres d'animaux trouvés morts contenant des MRS ;
- 2- des cadavres d'animaux ayant fait l'objet de suspicions cliniques d'EST ;
- 3- des carcasses de ruminants ayant eu un résultat non négatif au test rapide des EST.

Dans ces usines de transformation agréées, un traitement thermique (méthodes formalisées de 1 à 4 du règlement (CE) n°142/2011) est appliqué. A noter que seule la méthode 1 (133°C/3 bar/20 mn) est considérée comme efficace vis-à-vis du risque EST, avec un abattement de 2 à 7 unités logarithmiques de l'infectiosité selon la souche de prion considérée (Giles *et al.*, 2008 ; Taylor *et al.*, 2000). Le produit obtenu est ensuite incinéré ou co-incinéré ou fait l'objet dans certains cas d'un enfouissement.

Dans ces installations de transformation de catégorie 1, les effluents issus des stations d'épuration doivent subir un traitement thermique (133°C /3 bar /20 mn), méthode 1 préalablement à leur utilisation pour l'irrigation des cultures et des espaces verts<sup>6</sup>.

Comme indiqué dans l'avis de l'Afssa intitulé «*Risques sanitaires au regard de l'ESB liés aux rejets dans l'environnement des effluents et boues issus d'abattoirs et d'équarrissages*» de septembre 2003, les boues issues des stations de traitement des eaux, auxquelles sont connectés les

<sup>6</sup> Arrêté du 2 août 2010 relatif à l'utilisation d'eaux issues du traitement d'épuration des eaux résiduaires urbaines pour l'irrigation de cultures ou d'espaces verts.

abattoirs (établissements classés dans la rubrique 2210 de la réglementation ICPE) et les ateliers de découpe des carcasses de ruminants, sont susceptibles de concentrer l'essentiel de l'infectiosité potentielle contenue dans les effluents liquides ayant fait l'objet d'un prétraitement (dégrillage). En effet, des fragments de tissus renfermant de l'infectiosité peuvent passer à travers les grilles de 6mm de diamètre qui équipent ces installations. Ils se retrouvent par conséquent comme tous matériaux solides dans les boues. Il est à noter que l'infectiosité résiste à l'action des microorganismes dans les eaux usées brutes (Maluquer de Motes *et al.*, 2012)<sup>7</sup>. Ces boues qui sont entrées en contact avec des matériaux C1 ou qui contiendraient des fragments de MRS sont considérées comme des matériaux C1, selon l'arrêté du 12 février 2003<sup>4</sup>.

Cette conclusion logique peut être modulée par les considérants suivants :

- 1- les installations transformant des matériaux C1 concentrent l'essentiel de l'infectiosité ;
- 2- la situation épidémiologique de certaines EST évolue favorablement;
- 3- de nouvelles estimations de la dose infectieuse nécessaire pour infecter un bovin ont été publiées (Konold *et al.*, 2012 ; Wells *et al.*, 2007).

### 3.1. Analyse des travaux d'Adkin *et al.*

Un travail de modélisation quantitative du risque EST lié aux effluents d'abattoir et d'équarrissage, en Grande Bretagne, a été rendu public en 2012 (Adkin *et al.*). Selon les résultats de ce modèle, le risque de contamination supplémentaire d'animaux lié à l'irrigation des pâtures par ces effluents paraît faible : en moyenne il faudrait environ mille ans pour qu'une infection se produise pour l'ESB et de l'ordre de 30 ans pour les tremblantes (classique et atypique).

Les estimations d'Adkin *et al.* reposent sur un modèle impliquant de très nombreux paramètres, dont les valeurs sont, soit issues de la littérature, soit d'enquêtes de terrain. Malgré la complexité du modèle, qui tente de rendre compte des différentes sources de variation possible, plusieurs points suscitent des critiques :

1) les auteurs considèrent que l'infectiosité résiduelle est diluée dans l'eau épandue sur les terres. Cette concentration moyenne en infectiosité dans le sol<sup>8</sup> est estimée à partir de la quantité totale d'infectiosité (ID50) présente dans les eaux divisée par le volume d'eau épandu et prend en compte la densité des sols ainsi que les modalités et la profondeur d'épandage. Il apparaît cependant que le traitement d'une ou plusieurs carcasses infectées a lieu dans un espace géographique et un intervalle de temps limités. Par conséquent, l'infectiosité contenue dans les eaux issues du traitement d'une carcasse infectée se retrouve dans un volume d'eau limité, qui sera épandu sur une surface limitée. L'approche choisie par Adkin *et al.* ne semble pas pertinente car elle ne rend pas compte de cette concentration géographique et temporelle de l'infectiosité des eaux de traitement de carcasses infectées.

2) la même remarque peut être faite pour l'estimation de la dose infectieuse à laquelle les animaux sont exposés par le biais des sols après épandage des eaux contaminées. Cette valeur est obtenue en divisant la quantité d'infectiosité totale présente par hectare de surface pâturée (en relation avec les volumes d'eau épandus) par le chargement animal moyen à l'hectare<sup>9</sup>. Cette approche conduit à distribuer uniformément l'infectiosité entre tous les animaux exposés, ce qui rend artificiellement très faible l'exposition individuelle. Cette approche n'est pas appropriée au risque prion dans la mesure où l'infectiosité ne se distribue pas uniformément en solution. De plus les expérimentations de Fryer *et al.* 2011 soulèvent la possibilité d'une infection même à très faible dose.

<sup>7</sup> Une réduction de 2 logs des niveaux de PrP<sup>res</sup> (2 logs) est observée au bout de 150 jours dans cette étude, mais pas de l'infectiosité. Une diminution de l'infectiosité n'est observée qu'au bout de 265 jours (fin de l'étude), sans preuves que ce sont les microbiotes qui en sont responsables.

<sup>8</sup> Equation numéro 3 des travaux d'Adkin *et al.* (2013) page 1221.

<sup>9</sup> Effectif moyen d'animaux par hectare de pâture.

3) les auteurs ne prennent pas en compte l'accumulation d'infectiosité dans le sol sur plusieurs années, qui, compte tenu de la faible réduction de l'infectiosité des agents des EST au cours du temps, ne peut être négligée.

4) la quantité de matériaux portant de l'infectiosité entrant dans les stations d'épuration, notamment pour la tremblante atypique, est globalement sous-estimée par le modèle. En effet, le nombre de cas de tremblante atypique à l'abattoir est sous-estimé. Les auteurs considèrent que la sensibilité de détection de la tremblante atypique par les tests biochimiques rapides est similaire à celle estimée pour la tremblante classique, or les travaux d'Andreoletti *et al.*, 2011 montrent que la sensibilité de détection est significativement plus faible pour la tremblante atypique que pour la tremblante classique.

5) le paramètre décrivant l'infectiosité par voie orale (oral ID50/g) apparaît difficilement vérifiable compte tenu du peu de données actuellement disponibles.

6) Enfin, les auteurs ne semblent pas tenir compte de certains travaux récents relatifs :

- aux propriétés d'adsorption, de rémanence et de potentialisation de l'infectiosité des sols.
  - Après l'avis de l'Afssa publié en 2010, un certain nombre de travaux ont continué de souligner que l'environnement pouvait constituer une source de contamination par les prions. L'adsorption des prions à différents types de sol et le maintien de leurs capacités répliquatives au cours du temps ont été étayés par des études se basant sur des techniques d'amplification *in vitro* (PMCA) des prions (Jacobson *et al.*, 2010 ; Nagoaka *et al.*, 2010 ; Saunders *et al.*, 2011). Cette stabilité des prions dans le sol, identifiée le plus souvent avec des souches expérimentales a également été observée avec les agents responsables de la tremblante et de l'ESB, ces derniers étant capables de persister plus de 18 mois dans le sol (Maddison *et al.* 2010). En 2007, les travaux de Johnson *et al.* suggéraient que l'adsorption des prions à des particules du sol potentialisait leur infectiosité. Suite à ces travaux, les mêmes auteurs ont confirmé en 2011 cet effet dans le cas d'infection par voie orale, après interaction des prions avec les particules minérales (montmorillonite, quartz) (J.Toxicol Environ Health). Les données expérimentales sont également confortées par des études de terrain. Ainsi, Walter *et al.* (2011) ont révélé une relation positive entre la teneur du sol en argile et le nombre de cas de CWD (Chronic wasting disease ou Maladie du dépérissement chronique) dans les populations sauvages de cervidés. L'ensemble de ces éléments suggère que le sol constitue un réservoir d'infectiosité.
  - La démonstration de la contamination d'animaux par une source environnementale a été apportée par les travaux de Dexter *et al.* (2009) en exposant pendant 2 à 12 mois des agneaux de génotypes sensibles à des pâtures où avaient préalablement séjourné, en dehors de tout contexte d'agnelage, des brebis infectées par la tremblante classique (Dexter *et al.* 2009). De même les travaux de Imrie *et al.* (2009), suggèrent une corrélation entre la prévalence de l'ESB et de la tremblante classique au Royaume-Uni et la composition physico-chimique des sols.
- aux doses susceptibles de conduire à une contamination par voie orale.

Ainsi les travaux complétés de Wells *et al.* (2007) et de Konold *et al.* (2012) montrent qu'un inoculum contenant l'équivalent de 1 mg de cerveau infectieux d'un animal au stade terminal administré par voie orale chez le bovin est susceptible de transmettre l'ESB. Ces derniers résultats permettent de ré-estimer la dose contaminant 50% des bovins exposés (ID50 voie orale) à 0.15 g (IC95% 0.3-0.79 g) de cerveau. Par ailleurs, les travaux de Fryer *et al.* 2011 suggèrent qu'on ne peut définir de dose minimale infectieuse.



En conclusion, il apparaît au GT que les travaux d'Adkin ne reposent pas sur des données consolidées et comportent des hypothèses éloignées de la réalité et qui conditionnent les résultats. Pour ces raisons, le GT ne considère pas ce modèle utilisable comme fondement de l'évaluation du risque.

### **3.2. Réactualisation des conclusions de l'évaluation quantitative de risque portant sur les effluents d'abattoir dans l'avis « Risques sanitaires au regard de l'ESB liés aux rejets dans l'environnement des effluents et boues issus d'abattoirs et d'équarrissages » de septembre 2003.**

En septembre 2003, l'Afssa avait publié l'avis « risques sanitaires au regard de l'ESB liés aux rejets dans l'environnement des effluents et boues issus d'abattoirs et d'équarrissages ». Dans cet avis, une évaluation du risque associé aux effluents d'abattoirs avait été abordée en prenant en compte notamment la quantité de fragments de MRS susceptibles de se retrouver dans les circuits d'évacuation des eaux usées (évaluée alors à quelques grammes par bovin) ainsi que la dose capable d'infecter un animal.

L'analyse porte sur les éléments qui ont évolué par rapport à ce précédent avis de 2003.

#### **3.2.1. ESB et Tremblante.**

L'évaluation de 2003 ne prenait en compte que le risque associé à l'ESB. Le présent avis aborde également le risque prion associé aux souches de tremblante à l'instar de l'avis de l'Afssa du 19 mai 2010 (saisine 2009-SA-288).

#### **3.2.2. Dose infectieuse**

En 2003, l'Afssa retenait comme dose infectieuse capable d'infecter un bovin par voie orale, l'équivalent de 100 mg de cerveau d'un bovin au stade terminal de l'ESB. Comme mentionné au paragraphe 3.1, les travaux de Wells *et al* (2007) et Konold *et al* (2012) montrent que 1 mg de cerveau infecté a été capable d'infecter un bovin sur les 15 exposés à cette dose par voie orale. Ces mêmes travaux estiment que la dose infectante permettant d'infecter 50% de bovins exposés par voie orale est de 0,15 g.

Pour la tremblante, les experts avaient précédemment retenu (avis du 19 mai 2010) que dans le cas d'un isolat de tremblante classique (souche Langlade) la quantité de matériel (équivalent cerveau) permettant d'infecter par voie orale 70 % des animaux exposés était de 2mg (O.Andreoletti communication personnelle). Cette valeur est probablement sujette à variation compte tenu de la diversité des souches de tremblante classique ; par ailleurs les données sont insuffisantes pour définir une valeur de dose infectieuse dans le cas de la tremblante atypique.

#### **3.2.3. Infectiosité entrant dans les abattoirs et ateliers de découpe**

L'infectiosité entrant dans les abattoirs et ateliers de découpe est liée aux tissus à risque (MRS) issus d'animaux infectés. La surveillance active des EST réalisée en abattoir donne les résultats suivants :

##### **3.2.3.1. Bovins**

Les tests de dépistage de l'ESB en France ont permis de détecter en abattoir 1 cas en 2010 (à partir de 1 482 173 tests effectués) mais aucun cas en 2011 et 2012 sur un nombre globalement équivalent de tests. Pour rappel, le nombre de bovins infectés et dépistés était bien supérieur en 2003 (37 cas dépistés en abattoir sur 2 915 368 animaux testés). Rappelons, en outre, qu'une partie seulement des animaux infectés sont détectables, les autres ayant été réformés avant la fin de la période d'incubation, comme estimé dans un rapport de l'EFSA (EFSA Journal 2011;9(1):1947. [80 pp.]). Ces

pourcentages varient d'une étude à l'autre, mais il s'ensuit que pour 1 animal détecté positif, il peut être abattu, selon ces résultats, entre 2 et 10 animaux infectés non détectés à l'abattoir. En France pour les bovins nés avant juillet 2001, ce nombre a été estimé à 0,11 (Avis de l'Afssa du 11 mars 2013).

### 3.2.3.2. Ovins et Caprins

Le dépistage de la tremblante en France sur les petits ruminants à l'abattoir a donné les résultats suivants toutes souches de tremblantes confondues (classiques et atypique) (données ministère de l'agriculture 2012).

Dépistage des EST par les tests rapides chez les petits ruminants à l'abattoir:

	Ovins		Caprins	
	Nombre de tests	Nombre de cas positifs	Nombre de tests	Nombre de cas positifs
2010	8695	1	11 801	1
2011	10 439	3	12 651	0
2012	11 950	5	10 529	1

Globalement, une diminution de la prévalence de la tremblante classique a été observée depuis 2002 jusqu'en 2011, (Cazeau *et al.* 2012). En revanche, sur la base des données disponibles, la prévalence de la tremblante atypique ne varie pas significativement (prévalence stable ou en légère baisse).

Cependant, ce dépistage n'est réalisé que par sondage sur une fraction de la population, et par ailleurs les tests utilisés ne détecteraient que 50% des animaux infectés parmi les animaux testés (avis de l'Afssa du 5 décembre 2007, avis de l'EFSA 2010, Corbière *et al.*, 2013). Compte tenu de ces éléments, le nombre de cas non détectés à l'abattoir a été estimé en France à environ 1000 cas par an (avis de l'EFSA 2010 et avis de l'Anses 2012-SA-0090).

### 3.2.4. Retrait des tissus à risque en dehors des abattoirs

La totalité du retrait des tissus à risque est effectuée à l'abattoir à l'exception :

- de la colonne vertébrale des bovins qui peut être retirée en atelier de découpe.
- de la moelle épinière des carcasses de petits ruminants de plus de 13kg et de moins de 12 mois. Ces moelles épinières ne sont pas considérées comme MRS mais sont retirées en ateliers de découpe ou en boucheries pour ne pas être livrées au consommateur<sup>10</sup>.

<sup>10</sup> Arrêté du 31 décembre 2012 suspendant la remise directe au consommateur de certaines pièces de découpe de viandes ovines et caprines contenant de la moelle épinière.

### 3.2.5. Part relative de l'infectiosité présente dans les eaux usées d'abattoir ou d'ateliers de découpe

#### 3.2.5.1. Abattoir

Pour la chaîne d'abattage des bovins, il y a eu peu de changement depuis l'avis de 2003. La liste des MRS n'ayant pas été modifiée (à l'exception de la rate<sup>11</sup> des bovins et de la colonne vertébrale des bovins âgés de 24 à 30 mois<sup>12</sup> qui en ont été exclues), les éléments MRS susceptibles de se retrouver dans les eaux usées sont globalement inchangés. Il s'agit donc de fragments de cerveau obtenus lors de la trépanation de la boîte crânienne, lors de la séparation de la tête du reste de la carcasse et lors du prélèvement de l'obex, ainsi que des fragments de moelle épinière obtenus lors de l'aspiration (lavage de la sonde) et lors de la fente quand des fragments de moelle épinière sont restés dans le canal rachidien. Il est à noter que la probabilité de retrouver des fragments de MRS dans les eaux résiduaires des abattoirs est plus faible que celle constatée en 2003 en raison de l'application des mesures évitant la dispersion de SNC (obturation systématique de l'orifice de trépanation et du trou occipital) et de la réduction du nombre de prélèvements d'obex en raison de l'augmentation de l'âge seuil pour ces tests (de 30 à 72 mois).

Pour la chaîne d'abattage des ovins/caprins, l'étourdissement se fait par électronarcose, donc sans perforation de la boîte crânienne. D'une façon générale le crâne n'est pas ouvert (sauf pour extraire la cervelle des jeunes animaux qui est considérée comme exempte de prion) et sa séparation du reste de la carcasse ne s'accompagne généralement pas de chute de moelle épinière. Les carcasses d'ovins de moins de 12 mois ne sont pas fendues à l'abattoir, il y a donc peu de risque de dispersion de SNC. En revanche, pour les carcasses de plus de 12 mois il est toujours possible que des fragments de moelle épinière soient dispersés, l'aspiration n'étant généralement pas mise en place. Les données d'abattage pour l'année 2012 font état de 560 000 carcasses d'ovins et de 148 690 de caprins de plus de 12 mois sur environ 4 538 000 d'ovins abattus et 858 000 caprins.

L'autre origine des fragments de MRS qui pourraient être évacués dans les eaux usées est en rapport avec l'eau de lavage des bacs de C1.

Pour mémoire, le détail des postes à risque en abattoir est présenté dans l'annexe 1.

#### 3.2.5.2. Atelier de découpe et boucherie

Pour les bovins de plus de 30 mois, l'ablation des apophyses épineuses de la plupart des vertèbres et des ganglions rachidiens attenants s'effectue dans les ateliers de découpe ou les boucheries. Ces éléments sont évacués comme matériaux de type C1. Les eaux de lavage des plans de travail et du matériel suivent le circuit habituel des eaux résiduaires, néanmoins la part d'infectiosité susceptible d'être libérée dans ce circuit par ce type de MRS est probablement très faible (projections de tissu médullaire s'il est mal retiré avant fente et présence des ganglions rachidiens, éliminés avec les vertèbres en bac C1, sous réserve du respect d'une marge de 1 cm à partir du corps vertébral lors de la découpe afin de ne pas léser ces ganglions rachidiens et de les laisser attenants au rachis (avis de l'Afssa du 18 juin 2002).

<sup>11</sup> Arrêté du 28 octobre 2005 modifiant l'arrêté du 17 mars 1992 relatif aux conditions auxquelles doivent satisfaire les abattoirs d'animaux de boucherie pour la production et la mise sur le marché de viandes fraîches et déterminant les conditions de l'inspection sanitaire de ces établissements.

<sup>12</sup> Arrêté du 15 juin 2010 modifiant l'arrêté du 17 mars 1992 relatif aux conditions auxquelles doivent satisfaire les abattoirs d'animaux de boucherie pour la production et la mise sur le marché de viandes fraîches et déterminant les conditions de l'inspection sanitaire de ces établissements



Pour les petits ruminants, la moelle épinière des carcasses de plus de 13kg (animaux âgés de 6 à 12 mois) ne doit pas être remise au consommateur et est retirée dans les ateliers de découpe ou les boucheries<sup>13</sup> (pour rappel ; les moelles épinières des petits ruminants de plus de 12 mois sont retirées en abattoir). La note de service<sup>14</sup> décrivant ces procédures indique clairement que le matériel retiré n'est pas considéré comme C1 et est donc éliminé dans le circuit habituel c'est-à-dire en C3. De ce fait, il est tout à fait envisageable que des fragments de ce matériel se retrouvent dans les eaux usées urbaines et soient dirigés vers une station d'épuration des eaux urbaines. Une évaluation de la quantité de matériel infectieux pouvant se retrouver dans les eaux résiduaires, devrait reposer sur la quantité d'animaux ainsi traités<sup>15</sup>, sur l'estimation du nombre d'animaux infectés pour cette classe d'âge, et sur l'infectiosité de la moelle épinière. Toutefois, s'agissant de ce dernier aspect, le dernier avis de l'Anses en date du 13 septembre 2013 (saisine 2012-SA-0090) apporte des éléments de réponse. L'évaluation quantitative de risque réalisée dans ce précédent avis suggère que « *le bénéfice apporté par le retrait du système nerveux central des petits ruminants âgés de 6 à 12 mois comme pratiqué en France tend vers zéro* », l'infectiosité associée à cette matière première étant considérée comme très faible.

Pour les bovins, la dose infectieuse 50% (DL50) pour l'ESB estimée en 2003 d'après la littérature était de 670mg par voie orale. Aujourd'hui les données scientifiques montrent que 1mg de cerveau d'un animal atteint d'ESB suffit à infecter un bovin sur 15 exposés à cette dose, et 150 mg infectent 50 % des animaux exposés.

La probabilité de retrouver des fragments infectieux de MRS dans les eaux résiduaires des abattoirs est plus faible que celle constatée en 2003 d'une part en raison de l'application des mesures évitant la dispersion de SNC et d'autre part en raison de la régression de l'épizootie d'ESB.

Pour les petits ruminants, les procédés d'abattage ne conduisent pas à une entrée systématique de fragments de MRS dans le circuit des eaux usées (en dehors du poste d'ablation de la moelle épinière sur les carcasses d'animaux de plus de 12 mois et du prélèvement d'encéphale pour la réalisation des tests).

Ainsi, dans les abattoirs, les ateliers de découpe et les boucheries, l'infectiosité prion susceptible d'être disséminée dans le circuit des eaux usées provenant de ces établissements est considérée comme très faible.

### 3.3. Evaluation du risque prion relatif aux boues issues du traitement des effluents des installations classées soumises à autorisation sous la rubrique 2730

#### 3.3.1. Généralités

Les établissements régis par la réglementation ICPE 2730 sont les établissements traitant des sous-produits d'origine animale des catégories C1, C2 ou C3 définis dans le règlement (CE) n°1069/2009.

La réglementation régissant les installations classées soumises à autorisation sous la rubrique 2730 ne traite pas spécifiquement des risques associés aux EST et à leur persistance. Par conséquent, elle ne dicte pas de règles destinées à minimiser la dispersion de ces agents. Cette

<sup>13</sup> Arrêté du 31 décembre 2012 suspendant la remise directe au consommateur de certaines pièces de découpe de viandes ovines et caprines contenant de la moelle épinière.

<sup>14</sup> NOTE DE SERVICE DGAL/SDSSA/N2012-8118 Date: 06 juin 2012.

<sup>15</sup> à titre illustratif : en 2011, environ 4 millions d'ovins de moins de 12 mois ont été abattus en 2011 et environ 700 000 caprins de moins de 12 mois.

réglementation régit néanmoins la dispersion des boues dans l'environnement<sup>16</sup>. Si les durées d'interdictions de remise au champ sont suffisantes pour assurer une protection vis-à-vis de la plupart des microorganismes conventionnels, elles sont quasiment sans effet sur les agents des EST.

Comme indiqué dans l'avis de l'Afssa de septembre 2003, l'essentiel du matériel infectieux susceptible d'être présent dans les effluents d'installations transformant des matériaux C1 se retrouve dans les boues des stations d'épuration auxquelles ces installations sont raccordées. De plus, les agents responsables des EST peuvent persister dans l'environnement durant des années (voir paragraphe 3.1 et avis de l'Afssa du 19 mai 2010).

A ce jour, le traitement de référence permettant une réduction de l'infectiosité prion est le traitement thermique 133°C/3bar/20 mn. Suite à l'avis du 21 mai 2010, l'arrêté du 2 Août 2010 rend obligatoire le traitement thermique des effluents liquides provenant des installations traitant des matières de catégories C1/C2. Les effluents solides présentant un risque encore plus élevé que ces effluents liquides, ils doivent donc a minima subir le même traitement. Une dérogation à ces traitements doit reposer soit sur l'application de traitements dont la performance est équivalente au traitement de référence, soit sur la démonstration de l'absence de risque associé aux matières premières.

### **3.3.2. En ce qui concerne les deux établissements ayant obtenu des dérogations préfectorales.**

#### **3.3.2.1. Etablissement de traitement industriel utilisant des intestins de bovins pour un usage technique prévu par la réglementation.**

L'installation où les intestins de bovins (matériaux C1) sont valorisés est susceptible de rejeter accidentellement des fragments d'intestins vers la station d'épuration urbaine à laquelle elle est raccordée. La réglementation concernant cette dérogation oblige l'opérateur à récupérer l'ensemble des fragments non utilisés et à les traiter comme matériaux de catégorie C1 dans les établissements adéquats avec destruction par incinération (Arrêté du 17 mars 1992).

Les boues de cette station d'épuration urbaine, qui sont en contact avec du matériel C1, doivent par conséquent être traitées comme matériel C1. Cette obligation peut être modulée en fonction de la quantité d'intestins prélevés, du respect des obligations de récupération des fragments non utilisés et de l'infectiosité associée aux intestins (matière première).

Compte tenu des résultats des tests effectués en abattoir et sachant que les intestins proviennent d'animaux reconnus propres à la consommation humaine, on pourrait considérer que l'infectiosité présente éventuellement dans ces intestins est du même ordre que ce qui peut être observé en abattoir. Néanmoins, à l'inverse des abattoirs, cette installation traite exclusivement du matériel classé C1. Le process fourni par l'industriel se rapporte à l'activité de l'année 2013. La quantité d'intestins traitée par semaine dans l'installation est de 11730 kg, en provenance d'abattoirs français. Selon le rapport présenté au CODERST en Janvier 2010, la quantité de déchets générée est de 130 tonnes de matériaux broyés et partiellement déshydratés par an.

La préparation des lanières d'intestin et leur dégraissage s'effectue à l'abattoir et non dans cette installation industrielle.

Dans celle-ci, les déchets solides sont représentés par les parties d'intestins inutilisables (inférieures à 12,5 m) et les éléments retirés lors de la séparation des lanières. On peut noter que le schéma présenté par l'industriel est anatomiquement faux (la musculature n'apparaît pas). De

<sup>16</sup> L'arrêté du 12 février 2003 précise que l'épandage des boues est possible sur des herbages ou cultures fourragères trois semaines avant la remise à l'herbe des animaux ou de la récolte des cultures fourragères en cas d'absence de risque lié à la présence d'agents pathogènes ou six semaines dans les autres cas (hors EST). L'épandage des boues est possible dix mois avant la récolte et pendant la récolte elle-même pour les terrains destinés ou affectés à des cultures maraîchères et fruitières en contact direct avec les sols, ou susceptibles d'être consommés à l'état cru en cas d'absence de risque lié à la présence d'agents pathogènes (hors agents des EST). Ce délai est de 18 mois dans les autres cas. L'épandage n'est pas autorisé pendant la période de végétation sur les terrains affectés à des cultures maraîchères ou fruitières à l'exception des cultures d'arbres fruitiers.

plus, les documents fournis ne nous permettent pas de savoir quelle couche tissulaire est précisément utilisée et par conséquent ce qui est rejeté dans les déchets. Selon la réglementation européenne ces éléments doivent être récupérés et dirigés vers un établissement de traitement de sous-produits C1. Les déchets de matière première sont générés aux postes de mesurage, de séparation des 2 couches, de triage (sélection des lanières de longueur adéquate), des fragments détachés aux autres postes (séchage par exemple).

Les eaux usées issues de l'usine subissent un prétraitement avec une filtration à 1 ou 2 mm en fonction des rapports fournis et une flottation des graisses à l'aide d'eau pressurisée avant d'être envoyées dans la station d'épuration urbaine. Les résidus de tamisage et les graisses récupérées par flottation sont rassemblés avec les déchets solides d'intestins et traités à 80 ou 105°C, en fonction des rapports fournis, pendant 1h, puis décantés/centrifugés pour obtenir un extrait sec à 60% d'humidité avant d'être éliminés par incinération dans un établissement de traitement de C1.

#### Évaluation du risque associé à cette installation :

Le prétraitement des effluents par une grille de 1-2 mm permet de retenir des éléments solides supérieurs à la taille des mailles des tamis. Cependant, le cutterage des déchets solides réduit considérablement la taille de ces déchets qui peuvent de ce fait se retrouver dans les eaux résiduaires à la suite du lavage du matériel de l'installation et traverser les grilles de 1-2mm de diamètre.

La quantité d'eau éliminée lors du traitement ainsi que son devenir ne sont pas précisés. Cette eau peut être un vecteur de dissémination d'infectiosité.

Le traitement thermique des déchets broyés tel que décrit n'est pas réputé comme capable de réduire l'infectiosité prion.

Certaines mesures pourraient contribuer à la réduction de la dissémination de l'agent de l'ESB dans l'environnement :

- élimination directe des déchets d'intestin produits lors du process, des déchets de dégrillage et des graisses de flottation, selon la réglementation en vigueur, vers un atelier traitant des sous-produits C1 sans manipulation telles que broyage, pressurage etc.
- en France, le suivi épidémiologique de l'ESB montre que tous les cas détectés jusqu'à présent ont une date de naissance antérieure ou égale à 2004. L'utilisation d'intestins de bovins nés après 2004, contribuerait à réduire de manière supplémentaire le risque ESB classique associé à la matière première.

#### **3.3.2.2. installation de méthanisation**

L'arrêté préfectoral (2009) ainsi que la demande d'autorisation de l'établissement ont été communiqués à l'Anses. La demande d'autorisation prévoyait l'utilisation pour méthanisation :

dans un premier temps :

- des matières de catégorie 3 ;
- des résidus de curage, de dégraissage, de prétraitement, et les boues d'épuration d'établissement manipulant des matières de catégorie 3 ;
- des résidus de prétraitements d'effluents récupérés dans les abattoirs en aval de leur tamisage à 6 mm ;
- des boues d'épuration de ces abattoirs.

Dans un deuxième temps :

- des résidus de prétraitement d'effluents récupérés dans les usines de transformation de produits C1 ;

- des boues d'épuration de ces établissements.

Ces deux derniers produits sont susceptibles de contenir de l'infectiosité prion.

La notice figurant dans le dossier mentionne en prétraitement, une étape d'hygiénisation de ces matières premières à 70 °C pendant au moins une heure, pour des particules de taille inférieure à 12 mm. Le document présente très succinctement les mécanismes biochimiques de la méthanisation. Il s'agit d'un procédé de dégradation de la matière organique en anaérobiose en milieu humide par des populations bactériennes spécifiques (phases d'hydrolyse, d'acidogénèse, acétogénèse, méthanogénèse). A l'issue de ces 4 phases sont générés :

- une fraction gazeuse ou bio gaz,
- une fraction liquide ou digestat.

La durée moyenne de séjour des éléments solides au sein du digesteur serait de 30 jours. Cette fraction solide ou digestat d'un volume d'environ 40 000 m<sup>3</sup>/an est ensuite valorisée en épandage dans 40 exploitations agricoles dont 20 ont des cheptels (2 cheptels bovins de production laitière lait, 17 cheptels bovins de production bouchère, 1 cheptel bovin de production bouchère complété par un élevage de canards).

Les éléments de ce dossier ne permettent pas d'évaluer le devenir de l'infectiosité potentielle dans le méthaniseur de cette installation. Le traitement thermique hygiénisant, à lui seul, est insuffisant pour réduire efficacement l'infectiosité prion.

D'une façon plus générale, quelques travaux ont été publiés concernant la dégradation de la protéine prion pathologique dans des boues placées en condition de méthanisation (dégradation en anaérobiose) (Kirchmayr *et al.*, 2006 ; Hinckley *et al.*, 2008). Dans ces deux études, la persistance d'un signal de PrPres même après 20 jours de dégradation en anaérobiose indique que la méthanisation ne peut en l'état être considérée comme un procédé efficace de réduction de l'infectiosité liée au prion.

Traitements alternatifs :

La réglementation autorise l'utilisation de toute procédure permettant d'inactiver les agents des EST aussi efficacement ou plus que la procédure de référence : 133°C/3 bar/20mn sur des particules n'excédant pas 50 mm (Règlement (CE) n°142/2011). A ce jour aucune procédure remplissant ce critère n'est validée.

La précédente évaluation de l'agence portant sur les effluents liquides issus d'installation transformant des matériaux de catégorie C1 montrait notamment que les procédés d'épuration des eaux usées ne permettaient pas de garantir leur innocuité vis-à-vis des agents responsables des EST.

L'essentiel de l'infectiosité potentiellement présente dans les effluents est concentrée dans les boues des stations d'épuration. Ces boues ainsi que les digestats des méthaniseurs les utilisant devraient a minima subir le même traitement thermique que les effluents liquides ou être détruits comme des matières de catégorie 1. Une dérogation à ces dispositions doit reposer soit sur l'application de traitements dont la performance est équivalente au traitement de référence, soit sur la démonstration de l'absence de risque associé aux matières premières utilisées.

### 3.4. Conclusions

Les nouvelles données scientifiques pertinentes publiées depuis les précédents avis de l'Agence confortent l'idée qu'en cas de contamination, l'environnement peut constituer une source d'infection secondaire.

Le précédent avis du 19 mai 2010 recommandait la mise en place d'un traitement thermique réduisant l'infectiosité prion (133°C/ 3 bar/ 20 mn) pour les effluents liquides des installations traitant des matières de catégorie 1 ou 2 s'ils étaient utilisés pour l'irrigation des cultures destinées à l'alimentation humaine et animale. Or, les boues de ces établissements peuvent présenter une infectiosité supérieure à celle des effluents liquides non traités thermiquement.

S'agissant des boues issues de traitements des effluents des abattoirs, ateliers découpe et boucheries :

Aujourd'hui compte tenu de l'amélioration de la situation épidémiologique de l'ESB et de l'application de mesures visant à limiter la dispersion des fragments de MRS, l'infectiosité prion susceptible d'être disséminée dans le circuit des eaux usées provenant de ces établissements a diminué et est considérée comme très faible, ce qui ne conduit pas à recommander la mise en place de mesures supplémentaires.

Ces recommandations pourraient être révisées en fonction de l'acquisition de nouvelles données, notamment sur les formes atypiques d'EST.

S'agissant des installations transformant des matières de catégorie 1 :

La réglementation ICPE 2730 ne prend pas en compte spécifiquement le risque prion. Les boues issues du traitement de ces effluents devraient être détruites comme les matières de catégorie 1. Si les gestionnaires souhaitent maintenir la possibilité de déroger à ce principe : soit les boues devraient subir l'application du traitement thermique de référence (133°C / 3 bar /20 mn/ 50 mm), soit les dérogations préfectorales devraient s'appuyer sur une analyse des dangers validée par l'autorité compétente, prenant en compte, entre autres, le danger prion susceptible de se retrouver dans la matière première et l'efficacité des procédés de transformation appliqués aux sous-produits.

## 4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du groupe de travail sur les EST.

Marc Mortureux



**MOTS-CLES**

Sous-produits animaux, effluents solides, boues, prions, ATNC, épandage.

**BIBLIOGRAPHIE**

Adkin A, Donaldson N, Kelly L. A Quantitative Assessment of the Prion Risk Associated with Wastewater from Carcase-Handling Facilities. *Risk Anal.* 2013 Jul;33(7):1212-27. Epub 2012 Nov 5.

Afssa (18 juin 2002) : avis relatif au désossage mécanisé des vertèbres de bovins en atelier de découpe (saisine 2002-SA-0168)

Afssa (septembre 2003) : Avis relatif aux risques sanitaires au regard de l'ESB liés aux rejets dans l'environnement des effluents et boues issus d'abattoirs et d'équarrissages, septembre.

Afssa (décembre 2007) : Avis relatif à l'évaluation de la sensibilité diagnostique des tests rapides réalisés chez les petits ruminants sur un échantillon d'obex (saisine n°2007-SA-0371)

Afssa (mai 2010) : Avis relatif à l'évaluation des risques sur les effluents issus des établissements de transformation de sous-produits animaux de catégories 1, 2 ou 3 à des fins de réutilisation pour l'irrigation des cultures destinées à la consommation humaine ou animale en date du 19 mai (saisine 2009-SA-0288).

Anses (septembre 2013) Avis et rapport de l'Anses relatifs à l'analyse de certaines mesures de réduction de l'infectiosité, complémentaires aux mesures européennes et spécifiques à la France, visant à protéger le consommateur vis-à-vis de l'agent des encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) dans les filières de petits ruminants (saisine 2012-SA-0090).

Andréoletti, O., Orge, L., Benestad, S.L., Beringue, V., Litaïse, C., Simon, S., Le Dur, A., Laude, H., Simmons, H., Lugan, S., et al. (2011). Atypical/Nor98 scrapie infectivity in sheep peripheral tissues. *PLoS Pathog.* 7, e1001285.

Cazeau, G., Le Du, C., Calavas D., Surveillance des encéphalopathies spongiformes des petits ruminants en 2011 : maintien à un niveau très bas de la prévalence des tremblantes classique et atypique. *Bulletin épidémiologique santé animale et alimentation n°54 Anses/DGAL Novembre 2012.*

<http://www.ansespro.fr/bulletin-epidemiologique/Documents/BEP-mg-BE54.pdf>

Corbière, F., Chauvineau-Perrin, C., Lacroux, C., Lugan, S., Costes, P., Thomas, M., Brémaud, I., Chartier, C., Barillet, F., Schelcher, F., Andréoletti, O., 2013. The limits of test-based scrapie eradication programs in goats. *PloS One* 8, e54911.

David Walter, W., Walsh, D.P., Farnsworth, M.L., Winkelman, D.L., and Miller, M.W. (2011). Soil clay content underlies prion infection odds. *Nat. Commun.* 2, 200.

Dexter, G., Tongue, S.C., Heasman, L., Bellworthy, S.J., Davis, A., Moore, S.J., Simmons, M.M., Sayers, A.R., Simmons, H.A., and Matthews, D. (2009). The evaluation of exposure risks for natural transmission of scrapie within an infected flock. *BMC Vet. Res.* 5, 38.

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) Scientific Opinion on the revision of the quantitative risk assessment (QRA) of the BSE risk posed by processed animal proteins (PAPs) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); EFSA Journal 2011;9(1):1947  
<http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/1947.htm>

EFSA-Q-2010-0052 (2010). BSE/TSE infectivity in small ruminant tissues . Opinion of the Scientific Panel BIOHAZ - <http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/doc/1875.pdf>: 1-92.

Fryer, H.R., and McLean, A.R. (2011). There is no safe dose of prions. *PLoS One* 6, e23664.

Giles K, Glidden DV, Beckwith R, Seoanes R, Peretz D, DeArmond SJ, Prusiner SB. Resistance of bovine spongiform encephalopathy (BSE) prions to inactivation. *PLoS Pathog.* 2008 Nov;4(11). Epub 2008 Nov 14.

Hinckley, G.T., Johnson, C.J., Jacobson, K.H., Bartholomay, C., McMahon, K.D., McKenzie, D., Aiken, J.M., Pedersen, J.A., 2008. Persistence of pathogenic prion protein during simulated wastewater treatment processes. *Environ. Sci. Technol.* 42, 5254–5259

Imrie, C.E., Korre, A., and Munoz-Melendez, G. (2009). Spatial correlation between the prevalence of transmissible spongiform diseases and British soil geochemistry. *Environ. Geochem. Health* 31, 133–145.

Jacobson, K.H., Lee, S., Somerville, R.A., McKenzie, D., Benson, C.H., and Pedersen, J.A. (2010). Transport of the pathogenic prion protein through soils. *J. Environ. Qual.* 39, 1145–1152.

Johnson, C.J., Pedersen, J.A., Chappell, R.J., McKenzie, D., and Aiken, J.M. (2007). Oral transmissibility of prion disease is enhanced by binding to soil particles. *PLoS Pathog.* 3, e93.

Johnson, C.J., McKenzie, D., Pedersen, J.A., Aiken, J.M., 2011. Meat and bone meal and mineral feed additives may increase the risk of oral prion disease transmission. *J. Toxicol. Environ. Health A* 74, 161–166

Kirchmayr, R., Reichl, H.E., Schildorfer, H., Braun, R., and Somerville, R.A. (2006). Prion protein: detection in “spiked” anaerobic sludge and degradation experiments under anaerobic conditions. *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.* 53, 91–98.

Konold T, Arnold ME, Austin AR, Cawthraw S, Hawkins SA, Stack MJ, Simmons MM, Sayers AR, Dawson M, Wilesmith JW, Wells GA. BMC Bovine spongiform encephalopathy: the effect of oral exposure dose on attack rate and incubation period in cattle - an update. *Res Notes.* 2012 Dec 5;5:674.

Maluquer de Motes, C., Espinosa, J.-C., Esteban, A., Calvo, M., Girones, R., Torres, J.M., 2012. Persistence of the bovine spongiform encephalopathy infectious agent in sewage. *Environ. Res.* 117, 1–7.

Maddison, B.C., Owen, J.P., Bishop, K., Shaw, G., Rees, H.C., and Gough, K.C. (2010). The interaction of ruminant PrP(Sc) with soils is influenced by prion source and soil type. *Environ. Sci. Technol.* 44, 8503–8508.

Nagaoka, K., Yoshioka, M., Shimozaaki, N., Yamamura, T., Murayama, Y., Yokoyama, T., and Mohri, S. (2010). Sensitive detection of scrapie prion protein in soil. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 397, 626–630.

Saunders, S.E., Yuan, Q., Bartz, J.C., and Bartelt-Hunt, S. (2011). Effects of solution chemistry and aging time on prion protein adsorption and replication of soil-bound prions. PloS One 6, e18752.

Taylor, D.M., 2000. Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: A review. Vet. J. Lond. Engl. 1997 159, 10–17

Wells, G.A.H., Konold, T., Arnold, M.E., Austin, A.R., Hawkins, S.A.C., Stack, M., Simmons, M.M., Lee, Y.H., Gavier-Widén, D., Dawson, M., et al. (2007). Bovine spongiform encephalopathy: the effect of oral exposure dose on attack rate and incubation period in cattle. J. Gen. Virol. 88, 1363–1373.

## ANNEXE(S)

### Définition des tissus et des postes à risque à l'abattoir, en atelier de découpe et en boucherie.

#### *a) Eléments anatomiques concernés :*

L'analyse porte exclusivement sur les organes (appartenant à la liste des MRS) susceptibles de contenir de l'infectiosité et/ou de la PrPres, et dont la structure anatomique ou le mode de préparation rend possible un contact entre leurs structures profondes et le milieu extérieur.

#### Pour les bovins

Il s'agit du cerveau et de la moelle épinière (animaux de plus de 12 mois) et des amygdales.

Pour ce qui est des intestins (avec le mésentère), l'agent infectieux se trouve a priori dans la paroi et n'est donc pas en contact immédiat avec le milieu extérieur.

La colonne vertébrale des carcasses provenant d'animaux de plus de 30 mois est retirée dans les ateliers de découpe ou les boucheries, donc ce MRS n'est pas à être considéré en abattoir.

#### Pour les ovins

Il s'agit de l'encéphale des animaux de plus de 6 mois, des amygdales, de l'iléon quel que soit l'âge et de la moelle épinière des carcasses de plus de 13kg.

Pour l'encéphale, l'organe n'est pas extrait de la boîte crânienne et c'est l'ensemble du crâne avec son contenu qui est éliminé, le seul contact réside dans la section du SNC à la base du crâne. Les amygdales sont en partie éliminées avec le crâne et lors de la section de la langue, a priori peu d'éléments sont susceptibles de se retrouver sur le sol lors de ces opérations.

L'iléon est séparé par section au couteau du reste de l'intestin et éliminé sans contact avec les éléments extérieurs, la moelle épinière des carcasses de plus de 13kg est enlevée en atelier de découpe ou en boucherie, celle des animaux de plus de 12 mois est enlevée à l'abattoir après section de la colonne vertébrale. Lors de cette opération des fragments peuvent se retrouver au sol ou être éliminés avec l'eau de refroidissement de la scie.

La rate est enveloppée d'une capsule de tissu fibreux souvent dense qui la protège d'un contact avec le milieu extérieur.

**b) Définition des postes à risque***-Poste d'étourdissement :*

Le procédé autorisé pour les grands ruminants est le pistolet à tige perforante ou à percussion.

Le pistolet à tige perforante est le plus fréquemment utilisé. Il s'applique sur le frontal de l'animal de façon à ce que la tige perforante pénètre dans le cortex cérébral. Toutefois la réglementation prévoit que l'instrument utilisé ne doit « détériorer aucune des parties consommables de l'animal au point de les rendre impropres à la consommation ». Bien que le plus souvent la tige n'atteigne que la surface de l'encéphale provoquant un hématome sous-méningé il ne peut être exclu que des embolus de système nerveux central puissent se retrouver soit dans la carcasse soit être évacués dans le sang.

Le contact au poste d'étourdissement entre la tige du pistolet d'abattage et l'encéphale conduit à la présence possible de fragments de cervelle sur la tige du pistolet d'abattage, qui n'est pas systématiquement nettoyée entre chaque animal. En outre, il est possible que des fragments de tissu nerveux puissent être expulsés par l'orifice de trépanation malgré la mise en place systématique d'un bouchon obturant cet orifice.

L'étourdissement des petits ruminants se fait le plus souvent par électronarcose sans lésion de la boîte crânienne donc sans risque d'expulsion de fragments d'encéphale dans le milieu extérieur.

*Poste de dépouille et section de la tête :*

Au cours des opérations de dépouille, seule la phase de séparation de la tête au niveau de l'articulation atlanto-occipitale met en contact le couteau avec la moelle épinière qui est sectionnée lors de cette étape.

Il n'y a pas d'utilisation d'eau à ce poste excepté pour le nettoyage du couteau. Celui-ci est passé sous l'eau courante et est ensuite plongé dans le stérilisateur dans lequel l'eau est maintenue à 82°C.

Des éclaboussures sont projetées au sol lors de cette étape chaque fois que l'opérateur sort le couteau du stérilisateur. Compte tenu de l'importante fixation de la moelle épinière à la dure-mère par l'intermédiaire des racines des nerfs rachidiens, il n'y a pas à cette étape de risque d'expulsion de fragments de système nerveux. La lame du couteau ne porte pas de traces macroscopiquement visibles de tissu nerveux.

*Poste d'éviscération :*

La séparation des intestins ou partie d'intestins (petit ruminant) ne donne pas lieu à la dispersion de MRS dans l'environnement sous réserve de l'élimination immédiate de ces organes dans les containers dédiés.

*Prélèvement de l'obex :*

Le prélèvement de l'obex ne nécessite pas d'utilisation d'eau.

Les risques de dispersion d'éléments nerveux viennent du transport de la tête après le prélèvement. La mise en place systématique d'un bouchon obturant le trou occipital après le prélèvement d'obex limite considérablement le risque de chute de fragments de SNC.

L'eau de rinçage de la surface où se réalise le prélèvement et du sol est évacuée dans le réseau de collecte des eaux usées de l'abattoir.

L'augmentation de l'âge des animaux nécessitant un prélèvement d'obex (plus de 72 mois) conduit aussi à restreindre cette source de contamination.

Pour les petits ruminants le nombre de prélèvements réalisés en abattoir est aussi réduit (en moyenne 10 000 prélèvements par an pour chaque espèce).

*-Poste de déméduillation :*

Pas de modification des procédés et des risques depuis l'étude de 2003 (Avis de l'Afssa du 1<sup>er</sup> septembre 2003).

*-Poste de fente de la carcasse.*

Les observations faites en 2003 (Avis de l'Afssa du 1<sup>er</sup> septembre 2003) sont inchangées. L'ablation manuelle des restes de moelle épinière et le retrait systématique de la dure mère s'accompagne d'un stockage des éléments retirés dans un bac à proximité de l'opérateur et la chute de fragments sur le sol lors du dépôt des éléments retirés dans ce bac est souvent observée.

*-Prélèvement des amygdales :*

Pas de modification des procédés et des risques depuis l'avis de l'Afssa de septembre 2003.

*Nettoyage de la chaîne, des bacs à MRS, des aires de stockage :*

Pas de modification des procédés et des risques depuis l'avis de l'Afssa de septembre 2003