

50376
1975
109
N° d'ordre : 551

50376
1975
109

THESE

Présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE TROISIEME CYCLE

Spécialité : Biologie Végétale

Mention : Microbiologie

par

Philippe EB



ETUDE DE L'EVOLUTION DE LA MICROFLORE DU LISIER DU PORC

Soutenu le 7 Octobre 1975

, devant la COMMISSION D'EXAMEN

Membres du Jury :	MM.	R. BOURIQUET	Président
		J. GUILLAUME	Rapporteur
		J.C. DERIEUX	Examineur
		R. SEYNAVE	Examineur

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de Technologie et des Fermentations de l'Institut Pasteur de Lille sous la direction de Monsieur le professeur J. GUILLAUME. Nous désirons tout particulièrement vous remercier pour la confiance que vous nous avez toujours témoignée. Nous tenons à vous exprimer ici notre profond respect.

Que Monsieur le professeur R. BOURIQUET, Directeur de l'U. E. R. de Sciences Agricoles qui a bien voulu présider ce jury trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous remercions Monsieur J. C. DERIEUX de l'amabilité avec laquelle il a bien voulu accepter de faire partie de notre jury.

Nous sommes reconnaissant à Monsieur SEYNAVE, Directeur des Abattoirs de Lille pour l'accueil avec lequel il nous a reçu lorsque nous l'avons sollicité d'être juge de ce travail.

Enfin nous voudrions également remercier tous ceux qui ont été durant ces quelques années mes collègues et amis au laboratoire et à l'Université.

A ma Femme .

A mes Parents .

A ma Famille .

ETUDE DE L'EVOLUTION DE LA MICROFLORE DU LISIER DU PORC.

S O M M A I R E

• •
•

PLAN

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : CHIMIE ET ODEURS DES LISIERS.	3
A. COMPOSITION CHIMIQUE	4
A. 1. ETUDE AGROLOGIQUE	4
A. 2. LE LISIER : SOURCE DE POLLUTION	9
a) Mesures	
b) Moyens de lutte	
1 procédés anaérobies	
2 Procédés aérobies	
* Boues activées	
* Lits bactériens	
* Le stockage aéré	
* Le lagunage aérobie	
A. 3. COMPOSITION DU POINT DE VUE NUTRITIF	14
a) Matériel et Méthodes	
b) Résultats	
A. 4. CONCLUSION	17
B LES ODEURS DU LISIER	18
B. 1. BIBLIOGRAPHIE	18
a) Définition	
b) Mesure des odeurs	
c) Origine des odeurs	
B. 2. MOYENS DE LUTTE CONTRE LES ODEURS	23
a) Enfouissement	
b) Traitement de l'air odorant	
c) Les désodorisants chimiques	
d) Les traitements par aération	
B. 3. CONCLUSION	24
DEUXIEME PARTIE : ETUDE BACTERIOLOGIQUE	25
A. MATERIEL ET METHODES	27
A. 1. PRELEVEMENTS	27
a) dans l'intestin	
b) dans des fèces et du lisier	
A. 2. MILIEUX DE DENOMBREMENT	27
B. FLORE INTESTINALE DU PORC	29
B. 1. ANALYSE QUALITATIVE	29
B. 2. ETUDE QUANTITATIVE	30
a) Bibliographie	
b) Résultats personnels	

C. FLORE FECALE ET FLORE DES LISIERS	35
C. 1. FLORE FECALE	35
C. 2. FLORE DES LISIERS	37
a) Composition de la microflore	
b) Etude qualitative	
1 La flore aérobie totale	
2 Les bactéries sporulées	
3 Les Microcoques et les Staphylocoques	
4 Les Streptocoques du groupe D de Lancefield	
5 Les Lactobacillus	
6 Les Entérobactéries	
c) Facteurs pouvant influencer la composition bactériologique des lisiers	
1 L'alimentation du porc	
2 L'age	
3 Variations au cours d'une année	
4 Influence du lieu de prélèvement	
C. 3. COMPARAISON DES MICROFLORES : FECALE ET DU LISIER	45
D. CONCLUSION	47
TROISIEME PARTIE : ESSAIS DE MODIFICATION DE LA MICROFLORE	48
A. MATERIEL ET METHODES	49
A. 1. ETUDE DES MODIFICATIONS DE LA MICROFLORE	49
A. 2. ANALYSES SENSOREILLES	49
B. INFLUENCE DES FACTEURS PHYSIQUES ET CHIMIQUES	53
B. 1. LA TEMPERATURE	53
B. 2. ACTION DU pH	55
a) Etude des variations de la microflore	
b) Analyses sensorielles	
B. 3. L'AERATION	63
a) Lisier en fiole	
b) Aération sur colonne	
c) Aération industrielle des lisiers	
1 Analyse chimique	
2 Analyse bactériologique	
3 Analyse des odeurs	
B. 4. ACTION D'ENZYMES DIVERSES	73
B. 5. ACTION DES OXYDANTS	74
B. 6. ADDITION D'UNE SOURCE D'AZOTE	76
B. 7. ADDITION D'UNE SOURCE DE CARBONE	78

C. ESSAIS DE PRODUCTION DE BIOMASSE	81
C. 1. CLOSTRIDIUM TYROBUTYRICUM	81
C. 2. LES STREPTOCOQUES DU GROUPE D.	83
C. 3. LES LACTOBACILLUS	85
a) Production de biomasse	
b) Analyses sensorielles	
C. 4. LEVURES ET MOISSISSURES	91
a) Sélection	
b) Croissance en présence de Lactosérum	
C. 5. CONCLUSION	98

CONCLUSION	99
------------	----

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXE

INTRODUCTION

• •
•

L'élevage, en France connaît depuis une dizaine d'années d'importantes transformations ; l'élevage traditionnel est remplacé de plus en plus par l'élevage industriel. Il n'est pas rare de trouver des exploitations de plus de 1 000 porcs installées sur de petites surfaces. L'apparition d'unités spécialisées dans la production animale intensive affranchies de l'obligation traditionnelle de proportionner les effectifs à la surface agricole utile a bouleversé les données habituelles ; en effet, dans les petits élevages l'élimination des déjections animales ne posait pas de problème puisque les unités de production restaient à l'intérieur de l'exploitation agricole et à son échelle : cet état de fait permettait une dispersion sur l'ensemble du territoire et la nature pouvait aisément poursuivre son oeuvre sans qu'il en résulte de désagréments majeurs. Les grosses unités de production animale, soumises d'ailleurs au décret du 19 décembre 1917 relatif aux établissements insalubres et incommodes sont à la fois source de pollution par les lisiers qu'elles créent et source de nuisance par les odeurs qu'elles émettent.

Le lisier qui est composé par les déjections animales, l'urine, les eaux de lavage des porcheries, les aliments gachés par les animaux est stocké dans les fosses soit sous la porcherie soit à l'extérieur de celle-ci, un caniveau amenant le lisier des caillebotis à la fosse. C'est ce lisier qui, entrant en fermentation est à l'origine des problèmes de nuisance pour l'environnement et de nombreux travaux sont entrepris pour lutter contre les odeurs émises ainsi que pour diminuer la pollution provoquée par ces effluents de porcherie, les voies de traitement sont nombreuses, d'abord dérivées de celles des traitements des effluents urbains, elles tendent actuellement à se singulariser. Les services de l'environnement ne sont pas les seuls à travailler le lisier ; les agronomes considèrent le lisier de porc comme un fertilisant organo-minéral susceptible de présenter

un grand intérêt pour améliorer la fertilité des sols et subvenir aux besoins nutritionnels des cultures. Pour les agronomes il s'agit d'un produit fertilisant qu'il convient de conserver car en se substituant partiellement aux engrais minéraux son incorporation dans les sols cultivés restreint la dépense de fertilisation consentie au niveau de l'exploitation. Le développement rapide des porcheries sur lisier pose le problème du stockage et de l'évacuation de ce sous-produit considéré par l'éleveur comme gênant et nauséabond, le lisier devient alors pour l'éleveur plus préoccupé par ses bêtes que par ses terres un déchet de médiocre valeur qu'il cherche à évacuer au mieux en limitant les nuisances lorsqu'une réglementation l'y astreint mais sans trop se préoccuper des risques de pollution encourus par les nappes phréatiques ou les cours d'eau ni des conséquences à long terme qui risquent de découler d'épandages réalisés à doses inconsidérées.

Il existe une autre série de problème posée par les lisiers : la santé des humains et des animaux ; les excréments contiennent d'énormes quantités de bactéries : 10^7 à 10^{12} par gramme ces bactéries fécales peuvent être pathogènes et la fosse à lisier peut constituer un foyer de propagation. Les odeurs émises bien que gênantes pour l'environnement sont également nocives pour la santé, à des doses trop fortes et souvent répétées des gaz comme H_2S , CO_2 sont toxiques et sont capables de provoquer des lésions chez les animaux ; ces problèmes d'ordre sanitaire font que l'installation des porcheries est dans certains départements provisoirement interdite en attendant que les nouvelles lois relatives à l'implantation soient élaborées.

Pour cette étude sur le lisier de porc nous avons donc suivi le plan suivant. Les odeurs qui se dégagent des lisiers sont dues au métabolisme des microorganismes, il est donc nécessaire de connaître la microflore des lisiers. Nous avons ensuite envisagé les moyens de lutte contre les odeurs et principalement en essayant de modifier la microflore. Mais nous avons toujours été dirigé par le fait suivant: du point de vue économique la dépense doit être faible et à partir du moment où un traitement simple et bon marché ne peut exister, il faut rechercher des possibilités de valoriser le lisier tout en détruisant l'odeur c'est le but de notre dernière partie consacrée aux essais de culture en masse de cellules différentes.

P R E M I E R E - P A R T I E

C H I M I E E T O D E U R D E S L I S I E R S

A. Composition chimique

Il y a encore une dizaine d'années l'éleveur de porcs considérait le lisier comme un rebus gênant soit parce qu'il ne disposait pas de surfaces suffisantes pour l'épandre soit qu'ignorant la valeur fertilisante du lisier il employait des engrais pour amender ses terres. Les études entreprises par les agronomes ont montré l'apport non négligeable en éléments fertilisants des lisiers de porc. En réalité l'étude chimique des lisiers suit deux voies : celle des agronomes et celle des chimistes étudiant les problèmes de pollution. On a tout d'abord voulu considérer ces déchets comme des effluents banaux mais très rapidement les études ont montré que les effluents de porcherie présentaient des variations considérables quant à leurs propriétés d'une part et que d'autre part les critères classiques d'estimation de la pollution : demande biologique en oxygène (DBO5), demande chimique en oxygène (DCO) et matières en suspension (MES) ne permettaient pas une comparaison directe de ces effluents avec les effluents urbains ; il apparaît donc intéressant d'approfondir les recherches entreprises. D'autre part la composition biochimique des lisiers n'est pas connue, nous avons effectué quelques analyses dans le but de réutiliser les lisiers comme substrat de croissance pour différents microorganismes afin de produire de la biomasse. Aux données chimiques ci-dessous qui proviennent de différents travaux sur les lisiers nous joignons nos résultats concernant la composition en matières carbonées et azotées des lisiers.

A. 1. Etude agrologique

Les trois éléments principaux qui intéressent l'agronome sont l'azote, le phosphore et le potassium. Une analyse succincte du lisier par Coppenet (18) donne les résultats suivants comparés avec la composition des fèces et de l'urine.

	M.S.	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
URINE.....	40	3.4	traces-1	4.5
FECES.....	230	4.6	3.5	3.4
Déjection complète...	113	4	2	4

Composition en N, P, K
TABLEAU 1 en ‰ ou en Kg/t

Stoeckhardt (25) donne des résultats voisins excepté pour la teneur en phosphate des urines : 4°/‰.

Selon Gayral (32) l'urine contient la majeure partie de l'azote excrété alors que le phosphore se trouve plus précisément dans les fèces.

Selon Taiganides et al (69), Loehr (45) les excréments renferment 12 à 28 % de la matière sèche dont 75 à 87 % sous forme organique. Une analyse plus complète effectuée par les laboratoires de l'UFAC (25) et par Loehr donne les résultats ci dessous (tableau 2)

Le contenu en oligo-éléments est incertain et sans doute très variable :

	En p.p.m. sur produit frais	En p.p.m. sur produit sec selon Atkinson et al (1)
Fe	133	-
Mn	18	201
Zn	28	93
Cu	36	16
Co	0,15	1,0
Mo	-	2,1

Tableau 3. Composition en oligoéléments du lisier d'après Gayral (32)

	Selon L'UFAC (25)		Selon Loehr (45)
	Sur mat. sèche	Sur produit brut	Sur produit brut
Matière sèche.....	21,84 %	-	25 %
Matières minérales.	20,14 %	4,39 %	-
Azote total.....	2,55	0,56	0,45 %
Chlorures.....	0,13	0,028	-
Phosphore.....	3,95	0,86	0,13
Calcium.....	1,65	0,36	0,52
(Ammoniac).....	0,65	0,142	-
Manganèse.....	187 PPM	41 PPM	-
Cuivre.....	176 PPM	38 PPM	-
Fer.....	2539 PPM	554 PPM	0,02
Magnésium.....	7697 PPM	1681 PPM	0,07
Brome.....	traces	traces	-
Soufre.....	traces	traces	0,12
Potassium.....	2,37 %	0,518 %	0,34
Sodiur.....	0,40 %	0,087 %	-
Matières organiques	78,16 %	-	-

TABLEAU 2 : Composition chimique du lisier

Nous voyons donc que le lisier brut présente d'énormes différences de composition en éléments fertilisants dues principalement au bilan hydrique différent -dilution par eau pluviale, consommation hydrique excessive, fuite des installations d'amenée, déperdition par évaporation directe ou infiltration dans les fosses- mais également par exemple au type d'alimentation.

Une étude du CTGREF (Centre technique du Génie Rural et des Eaux et Forêts) établie en coopération avec divers groupements des Côtes du Nord donne les résultats suivants (19)

	Sur produit brut		Sur matière sèche	
		Moyenne		Moyenne
Teneur en M.S. en ‰	9 à 120	41	-	-
Teneur en mat. minérales	4,4 à 31,6	14	263 à 493	366
N total	1,9 à 8,6	4,6	23 à 205	120
P ₂ O ₅	0,46 à 6,5	9,4	34,6 à 76,5	60
K ₂ O	1,29 à 4,9	3,2	32,3 à 166	94
CaO	-	-	33,0 à 79,4	66

TABLEAU 4. Composition chimique moyenne des lisiers de porc en ‰.

La teneur en eau des lisiers est élevée, au minimum 60 ‰. La teneur en azote varie dans un intervalle de 1 à 10 ; celle en potasse selon un facteur 5. Par contre le contenu en matières minérales en P₂O₅ et en CaO montre une plus faible variabilité du simple au double seulement.

Le contenu en azote total croît avec l'élévation du taux de matières sèches, celui en K₂O décroît dans ces conditions. La teneur en P₂O₅ est sans liaison avec la présence des matières sèches (Barloy (4)).

En résumé 50 à 80 % de l'azote total se trouve sous forme ammoniacale ; une infime fraction (0,1 %) étant nitrique, le reste de l'azote se trouve engagé dans des combinaisons organiques facilement nitrifiables après incorporation au sol.

13 à 20 % de l'acide phosphorique est présent sous forme soluble, le reste étant précipité (boues rencontrées au fond des fosses) ou, sous forme organique. 62 % du magnésium et tout le potassium seraient solubles dans l'eau. Du point de vue des matières organiques fraîchement dégradées le lisier de porc contient de 0,9 à 1,7 % d'acides fulviques (Charles et Cétol (16)).

Leveau (43) a montré que la quantité d'éléments minéraux rejetés journellement variait en fonction de l'âge et du régime alimentaire.

Pour Barloy (4) l'utilisation des lisiers comme engrais est donc intéressante mais elle nécessite une bonne connaissance des caractéristiques physiques et chimiques des sols, leur contrôle périodique pour juger de la nécessité d'appliquer des amendements ou une fumure minérale complémentaire. C'est le seul moyen pour éviter l'accumulation de certains éléments, l'apparition de carence par blocage ou antagonisme et une dégradation de la fertilité des sols.

Notons que la valeur marchande du lisier est de 8 à 10 F le m³ en affectant aux diverses unités d'éléments fertilisants la valeur qu'elles ont sous la forme commerciale la moins chère ; en réalité lorsque le lisier fait l'objet de transactions il est vendu environ 4 fois moins que sa valeur marchande.

A. 2. Lisier source de pollution.

a) Mesures

Les caractéristiques utilisées pour mesurer la pollution sont le taux d'azote, la DBO₅, la DCO ; en 1971 Miner (50) a proposé des normes pour la pollution émise par un porc de 1 000 lb (tableau 7)

Lisier	lb/jour	:	50
MS	lb	:	7,2
M.V.	lb	:	5,9
DBO ₅	lb O ₂	:	2,1
DCO	lb O ₂	:	6,3
N ₂	% M.S.	:	5,6
P ₂ O ₅	% M.S.	:	2,5
K	%M.S.	:	1,4

TABLEAU 7 : Pollution émise par un porc de 1 000 lb.

Bernard (9) trouve des valeurs en azote allant de 0,20 ‰ à 4,5 ‰, la DBO en mg O₂/l variant de 2300 à 22 000 et la DCO de 14 000 à 45 000 mg O₂/l. Gayral (32) ne s'est pas contenté de mesurer la pollution émise mais il a comparé les chiffres obtenus avec les mesures de pollution sur l'urine et les fèces des porcs, il aboutit aux observations suivantes :

- il y a augmentation de la pollution émise en fonction du poids vif ou la quantité de matière sèche ingérée.

- le rapport DBO / poids vif est constant chez le porc en croissance entre 30 et 80 kg et montre la linéarité de la DBO₅ en fonction du poids vif.

- la répartition de la pollution entre l'urine et les fèces attire quelque remarque : l'urine est plus biodégradable que les fèces et le reste indépendamment du stade physiologique alors que la biodégradabilité des fèces diminue régulièrement avec l'augmentation de poids.

De nombreux auteurs : Schmidt (64), Jones (39), Okey (56) Salmon -Legagneur (63), Taiganides (69) ont montré que les critères de mesure de la pollution variaient en fonction de l'âge de l'animal.

Poids du porc	LISIER kg	M.S. g	D.B.O. g ⁰ ₂	D.C.O. g ⁰ ₂	N ₂ g
50 kg	4,5	270	105	229	-
75 kg	6,3	405	174	387	-
75 kg	6	420	210	420	-
45 kg	4,8	288	126	283	31,5
40 kg	2,7	206	49	116	22
100 kg	6	690	220	-	39

TABLEAU 8 : pollution émise en fonction de l'âge de l'animal.

Ces analyses montrent que plus l'animal est âgé plus la pollution émise est grande ; ceci n'est vrai que pour des porcs de plus de 50 kg car Day (20) a proposé une étude de la charge polluante en fonction du stade physiologique (tableau 9)

	Poids vif kg	DBO ₅ /g/j g ⁰ ₂	DBO ₅ /kg poids vif g ⁰ ₂
Verrat.....	160	180	1,1
Truie en gestation..	120	180	1,5
Truie + portée..	170	340	2,0
Porcelet.....	16	32	2,0
Porc.....	30	60	2,0
Porc.....	70	135	1,9

TABLEAU 9 : Etude de la charge polluante en fonction du stade physiologique

On constate que les porcelets polluent plus qu'un porc de 160 kg.

Signalons également que les valeurs de la DBO et de la DCO sont différentes en fonction de l'alimentation (Stambouli (67)).

	DBO	DCO
Lactosérum.....	130.250	330.640
Céréales.....	150	800
Céréales sur litière.....	35.70	140.200

TABLEAU 10 : Charge polluante des lisiers en fonction de l'alimentation en g⁰₂

b) Moyens de lutte

De nombreuses études sont actuellement en cours afin d'éliminer cette source de pollution. Les deux modes de traitement utilisés sont les mêmes que pour les traitements des effluents urbains.

b.1.) Procédés anaérobies

Deux techniques prédominent :

- les digesteurs à boue dans lesquels les procédés de fermentation sont déviés vers une production de méthane (8) (11) ; Hobson et Shaw (38) par cette technique encore à l'état expérimental pour ce qui est du traitement des effluents de porcherie arrivent à produire 60 % de méthane mais les stades d'initiation et la phase de stabilisation sont difficiles à contrôler ; cependant à l'heure actuelle où l'on recherche des sources d'énergie celle-ci paraît intéressante car elle est d'un faible prix de revient.

- par la deuxième voie de traitement : le lagunage anaérobie, Koelliker et Miner (41) éliminent 89 à 96 % de la DCO et 57 à 65 % de l'azote total en utilisant avec succès une dénitrification biologique des effluents de porcherie à la station expérimentale de l'Université de Iowa.

b.2.) Procédés aérobies

Les systèmes basés sur l'emploi de fermentations aérobies pour le traitement des lisiers de porcs sont plus nombreux.

* Les boues activées.

Dans les procédés de type boues activées, la masse des microorganismes épurateurs est maintenue en suspension dans le liquide agité et aéré ; ce sont les microorganismes qui se rassemblent en particules floconneuses d'une taille allant de quelques dizaines de microns à quelques millimètres, ils constituent la "boue activée".

La station d'épuration par boues activées comprend :

- un bassin d'aération.
- un bassin de décantation appelé décanteur secondaire ou clarificateur.

- un dispositif de recyclage des boues activées.

Dans ce type de procédé le rendement d'épuration est d'autant meilleur que la charge est plus faible c'est à dire que la masse de microorganismes présente pour absorber une quantité donnée de matière organique est plus importante (3).

* Lits bactériens

Le procédé des lits bactériens consiste à faire ruisseler le liquide à épurer sur un matériau présentant des vides suffisants pour permettre à l'air de circuler dans la masse. Le matériau sert de support au film bactérien qui assure l'épuration et l'aération s'effectue naturellement par simple contact entre l'air et le liquide qui ruisselle.

Mann (47) en Grande-Bretagne a utilisé comme support du fagot de bois, ce procédé a été repris par Vasseur (71) au CNEEMA ; d'autres essais sont réalisés sur de la brique creuse. La réduction de DBO obtenue est de 50 à 70 %. Les différents travaux ont démontré l'efficacité de ce système peu consommateur d'énergie mais qui nécessite des investissements importants.

* Le stockage aéré (stabilisation aérobie)

Des turbines ou aérateurs de surface réalisent par l'intermédiaire d'une hélice mue par un moteur un brassage air-lisier et incorporent à ce dernier une quantité plus ou moins importante d'oxygène. Ces aérateurs peuvent être flottants ou fixés à des passerelles : travaux de Fournaraki (28) et d'Heyman (37) à la station expérimentale de l'ITP à Villefranche de Rouergue. En traitant du lisier en "aération prolongée" les résultats enregistrés sont les suivants : réduction de 95 % de la DBO et réduction supérieure à 90 % de la DCO. Lorsque le lisier est préalablement tamisé les résultats enregistrés sont plus rapides. Après "tamisage" il reste à traiter la phase liquide. On constate que l'azote ammoniacal, le K_2O , et Nx_2O restent dans cette phase liquide ; le phosphore, le calcium ainsi que la matière carbonée se concentrent dans la phase solide : le rapport C/N/P est alors favorable à une bonne fermentation du sédiment.

* Le lagunage aérobie.

C'est le procédé de traitement le moins coûteux mais il nécessite de grandes surfaces d'épandage et un sous-sol imperméable pour ne pas contaminer les nappes souterraines. Une étude sur maquette de Carot et Stambouli (15) montre une élimination de la DBO de 96,9 % en 5 mois. Le principe de ce procédé est le suivant : l'apport d'oxygène se fait par échange à la surface tout d'abord et cette faible quantité d'oxygène dissout provoque la dégradation partielle des matières organiques par l'intermédiaire de bactéries aérobies, de protozoaires qui dégagent du CO_2 , celui-ci est réutilisé par les algues qui à leur tour dégagent de l' O_2 réutilisable par la flore microbienne. Ce processus demande un milieu bien équilibré et des conditions environnantes adéquates, il est plus facilement réalisable dans les régions à luminosité forte et à température douce ou élevée.

* ITP institut technique du Porc

A. 3. Composition du point de vue nutritif.

Le problème de la réutilisation des résidus est souvent abordé à l'heure actuelle ; des essais de production de cellules à partir d'effluents de porcherie sont en cours en Belgique et à Formose (42) il serait en effet intéressant de valoriser les lisiers et nous avons recherché s'ils possédaient les caractéristiques nécessaires pour constituer de bons milieux de culture.

a) Matériel et Méthodes.

Les dosages sont effectués soit directement sur le lisier, soit après séparation des phases liquide et solide ; la séparation est effectuée par filtration.

-dosage de la matière organique totale effectué par la méthode de Anne, il s'agit en fait du dosage du carbone organique après oxydation chromique.

-dosage de l'azote total selon la méthode de Kjeldhal. A partir du poids d'azote trouvé on pourra évaluer la quantité de matières protéiques présente dans le lisier brut en multipliant par 6,25.

-dosage des protéines insolubles par la méthode de Lowry (46)

- dosage des sucres totaux par la méthode à l'orcinol sur la phase liquide, dosage effectué après hydrolyse chlorhydrique.

-enfin dosage de la cellulose par la méthode de la station agronomique de Weende.

b) Résultats

Nous allons tout d'abord comparer la teneur en matières organiques et en azote total du lisier brut et du lisier filtré. Les résultats sont donnés dans le tableau 11.

Remarque : dans les tableaux suivants les résultats sont exprimés en pour cent de matière fraîche.

	Mat. organiques	N total
Lisier brut	2,54 g/L	2,8 g/L
Phase liquide après filtration	0,14 g/L	1,05 g/L
Phase liquide après précipitation des protéines par TCA 20 %	0,05 g/L	

TABLEAU 11 : Composition en C et N des lisiers.

D'après ces premiers résultats nous constatons donc que dans le lisier brut il y aurait si l'on considère que le taux de protéines est égal à $N \times 6,25 = 17,5 \text{ g/l}$, les matières cellulosiques représentent alors environ $1/3$ de la matière organique totale.

Nous constatons également qu'après filtration il y a 20 fois moins de matière organique alors que le taux d'azote est seulement diminué de moitié ; les sucres assimilables dans cette phase liquide représentent $0,5 \text{ g/l}$ ce qui évidemment est très faible.

Dans le tableau 12 suivant nous comparons la composition en matières azotées et en sucres assimilables des phases liquide et solide du lisier.

		lot 38	lot 39	lot 40	lot 41
PHASE LIQUIDE	PH	7,1	7	7,1	7
	Mat. sèche	1,24 %	0,83 %	0,66 %	0,37
	N total	0,37 %	0,29 %	0,208 %	0,265 %
	N x 6,25	2,31 %	1,81 %	1,33 %	1,65 %
	Protéines insolubles	0,02 %	0,11 %	0,05 %	0,19 %
	Sucres totaux	0,065 %	0,069 %	0,027 %	1,138 %
PHASE SOLIDE	PH	7,1	7	7,1	7
	Mat. sèche	12 %	2,8 %	16,48 %	10,84 %
	N total	0,39 %	0,95 %	0,93 %	
	N x 6,25	2,43 %	5,94 %	4,33 %	
	Protéines insolubles	1,92 %	0,68 %	1,78 %	1,03 %
	Sucres totaux		0,011 %	0,009 %	0,012 %
	Cellulose	0,8 %	0,3 %	0,6 %	1,2 %

TABLEAU 12 : Comparaison des teneurs en matières carbonées et azotées des phases liquides et solides des lisiers.

Nous constatons que la teneur en sucres assimilables est très faible, que les matières cellulosiques qui représentent presque la totalité du C ne sont pas dégradables par la majorité des microorganismes. Ces résultats font présager qu'il sera délicat d'employer le lisier comme milieu de culture pour des microorganismes.

Dans le tableau 13 nous donnons les résultats moyens d'analyse effectuées sur du lisier brut :



pH	:	6,9 - 7,2
Mat. sèche	:	0,87 %
N total	:	0,21 %
N x 6,25	:	1,34 %
Cellulose	:	0,6 %
Sucres totaux	:	0,04 %

TABLEAU 13 : Composition moyenne d'un lisier de porc.

A. 4. Conclusion

L'étude chimique du lisier de porc a révélé l'originalité de ce milieu. Elle a montré que le lisier apportait aux terres les éléments indispensables pour les cultures. Elle a permis d'optimiser les traitements d'épuration. Mais surtout elle montre que le lisier bien que riche en matières organiques ne constituerait pas un milieu de culture favorable à la croissance des microorganismes parce qu'il y a un déficit en matières carbonées facilement assimilables. Il faudra donc envisager l'apport d'éléments nutritifs (sucres) extérieurs pour utiliser le lisier de porc comme milieu de culture.

B. Les odeurs du lisier

Dans le monde civilisé d'aujourd'hui, l'homme est sensibilisé aux problèmes de nuisances. Les odeurs dégagées par le lisier soit au cours du stockage soit durant l'épandage incommode les riverains des porcheries mais surtout les citadins qui passent leurs week-end à la campagne. De nombreux travaux visent à trouver une solution aux problèmes des odeurs mais il faut avant tout connaître et savoir identifier les odeurs.

B. 1. Bibliographie

a) définition

L'odeur est une sensation agréable ou désagréable perçue par l'appareil olfactif de l'homme. Il existe deux théories principales sur la perception des odeurs, selon la première théorie les molécules des substances odorantes sont absorbées sur les membranes olfactives, ceci produit une série d'impulsions nerveuses qui sont interprétées au niveau du cerveau comme une "sensation odorante" ; la deuxième théorie est basée sur la perception physique : les radiations caractéristiques produites par les vibrations propres à chaque molécule agissent sur les microcavités des membranes olfactives qui retransmettent des messages nerveux au cerveau selon Collet (17). L'odorant est le plus souvent présent en concentration infime (10^{-5} ppm). Pour être odorante une substance se trouve en général à l'état gazeux ou à l'état de vapeur. Pour provoquer une sensation d'odeur, les odorants répondront à trois conditions :

- ils doivent avoir une source
- ils doivent pénétrer dans l'air ambiant.
- ils doivent se déplacer vers un complexe biologique susceptible de les percevoir.

b) Mesure des Odeurs

Actuellement deux types de méthodes sont utilisés, ils ne donnent ni l'un ni l'autre parfaitement satisfaction : les méthodes physico-chimiques ne donnent que des résultats partiels et les analyses sensorielles sont difficilement reproductibles. Le matériel analytique le plus utilisé est la chromatographie en phase gazeuse en ionisation de flamme : celle-ci peut détecter des composés jusqu'à des concentrations de 10^{-12} g, en-dessous de cette teneur la chromatographie ne peut plus distinguer des odorants que le nez peut encore percevoir mais il est toujours possible de réaliser des préconcentrations de l'échantillon à analyser (sur piège à froid) par exemple.

Il reste quand même très difficile d'interpréter ces chromatogrammes. L'odorogramme (23) est un chromatographe équipé sur la sortie de la colonne d'un dispositif permettant de respirer les substances volatiles séparées et analysées : on peut ainsi définir le caractère odorant, agréable ou désagréable de chaque pic.

D'autres méthodes plus complexes peuvent être employées : la spectrométrie de masse, la spectrométrie à infra-rouge, la spectrométrie à résonance magnétique nucléaire.

Les mesures sensorielles vont permettre d'évaluer l'intensité, l'acceptabilité et la qualité des odeurs. Elles reposent sur l'appréciation d'un jury soigneusement sélectionné de 5 à 10 personnes.

Dans la majorité des méthodes on recherche la concentration-limite olfactive au-delà de laquelle une odeur n'est plus détectable par l'homme. Cette concentration minimale est appelée "seuil de détection". Le seuil est variable selon l'observateur et les conditions ambiantes. L'intensité d'une odeur peut donc être considérée comme un multiple de la concentration du seuil de détection.

La détermination du seuil de détection peut se faire par deux méthodes :

- les dilutions gazeuses
- les dilutions liquides.

Dans les méthodes de dilution gazeuse le matériel utilisé est l'olfactomètre de Sobel (65) et l'olfactomètre CEA (75) ; dans ces deux dispositifs l'air odorant est mélangé avec un gaz sans odeur (l'air en général) en augmentant la dilution jusqu'à ce que l'odeur soit juste décelable.

Sobel a proposé une échelle de classement des odeurs.

PRESENCE D'ODEUR	:	:	INTENSITE D'ODEUR
absence	:	0	absence
	:	1	
trés faible	:	2	trés faible
	:	3	
faible	:	4	faible
	:	5	
nette	:	6	nette
	:	7	
forte	:	8	forte
	:	9	
trés forte	:	10	
	:		
	:		
	:		

TABLEAU 14 : Classement des Odeurs selon Sobel (66)

Dans les méthodes de dilution liquide, chaque échantillon de lisier, dilué ou non, présenté au jury reçoit 2 notes selon l'échelle de Sobel (66) l'une concernant l'acceptabilité et l'autre l'intensité de l'odeur

c) Origine des odeurs

Le stockage du lisier en fosse peut parfois s'effectuer sur des périodes longues de 6 mois ; ceci provoque dans la fosse des phénomènes de fermentation dus vraisemblablement aux bactéries anaérobies et aux bactéries aérobies-anaérobies facultatives. Selon Baxter (7) et Robertson (60) la décomposition s'effectue en 3 phases.

- durant la première phase les systèmes enzymatiques extra-cellulaires produits par la microflore hydrolysent les composés organiques partiellement dégradés (glucides, protides, lipides donnent des sucres simples, des peptides, des amino-acides, du glycérol et des acides gros de type acétique, propionique, butyrique. Cette première étape dite de fermentation acide convertit la plupart des substances organiques insolubles en produits intermédiaires solubles.

- au cours de la deuxième phase les acides organiques et les composés azotés solubles se décomposent en NH_3 , amines, CO_2 , azote, hydrogène, méthane puis le pH augmentant il y a formation de dérivés sulfurés d'hydrogène sulfureux, d'indol, de scatol et de mercaptans ; cette deuxième phase est qualifiée de phase de régression acide.

- enfin durant la dernière phase dite de fermentation alcaline sous l'influence des bactéries méthaniques les acides organiques sont dégradés en CO_2 et en méthane.

En définitive Bethea (10) et Merkel (48) ont pu identifier 27 composés gazeux appartenant au groupe des amines, des amides, des alcools (C_1 à C_4 sauf éthanol), carbonyles dont formaldéhyde, acétaldéhyde, propionaldéhyde, isobutyraldéhyde, des disulfides, des mercaptans en plus des gaz classiques CH_4 , CO_2 , NH_3 et H_2S .

Les amines et les composés volatils sulfurés ont une part de responsabilité dans les odeurs des déjections mais les principales odeurs fécales sont le fait des scatols et des indoles produits par la décomposition du tryptophane et de produits gazeux résultant de la fermentation des sucres (tableau 15)

La majorité de ces produits sont volatils et nauséabonds et ils se démasquent davantage lors de l'épandage.

Agents responsables des odeurs de lisier	
Mercaptans	
Sulfides	Composés volatils sulfurés
Disulfides	
Amines	
Acide butyrique	Acides
Acide acétique	
Ammoniac	
Hydrogène sulfureux	
Indol	
Scatol	
Formaldéhyde	Carbonyles
Acétaldéhyde	
Ethanol	
Méthanol	Alcools
Propanol (n)	
Butanol	

TABLEAU 15 : PRINCIPALES substances odorantes des lisiers d'après de la Farge (26)



B. 2. Moyens de lutte contre les odeurs

Il ne s'agit pas ici de donner une liste complète des moyens généraux de lutte contre les odeurs mais d'évoquer succinctement quelques procédés utilisés ou encore au stade expérimental pour traiter les odeurs de lisier.

a) Enfouissement

Lors de l'épandage du lisier à la surface des terres on trouve les conditions optimales pour une bonne dispersion des odeurs. Lorsque le lisier est enfoui dans le sol immédiatement après épandage les odeurs disparaissent. Actuellement des machines enfouissantes adaptées à la tonne à lisier sont commercialisées et il faut noter que ce procédé est à l'heure actuelle l'un des plus économiques.

b) Traitement de l'air odorant.

Il s'agit d'appliquer aux porcheries les traitements utilisés dans l'industrie. Le traitement peut se faire par lavage des gaz sur tour (10), par combustion des gaz (29), par passage sur charbon activé (78) par passage sur résines échangeuses d'ions ou par filtration sur terre (36). Ce sont des procédés coûteux et difficilement applicables aux porcheries.

c) Les désodorisants chimiques.

Day et Coll.(21) ont montré que l'addition de chaux à du lisier maintenait le pH de celui-ci entre 9 et 11 et provoquait une légère diminution d'odeur.

Robertson (61) après des essais de chloration soit directement avec du chlore, soit en employant des hypochlorites révèle que la dose efficace est de 45g/porc/jour. Le chlore agit en tant qu'oxydant et bloque ainsi les fermentations anaérobies essentiellement les fermentations sulfato-réductrices.

Récemment sont apparus sur le marché un certain nombre de produits désodorisants. Ils peuvent être classés en 3 catégories :

- les agents masquants aromatiques
- les désodorisants biologiques
- les agents chimiques.

Une étude de ces produits a été effectuée par Weil et Coll.(75)

Une liste de ces produits sera donnée en annexe.

d) Les traitements par aération

Ces procédés ont déjà été cités lors de notre revue bibliographique sur les moyens de traitement de la pollution provoquée par les lisiers. En effet on a remarqué que lors d'aération prolongée des lisiers de porc il y a une nette régression des odeurs. Rappelons encore une fois que la mise en place de ces stations d'épuration demande des investissements importants.

B. 3. Conclusion

La méthode d'analyse sensorielle des odeurs peut être contestée parce qu'entièrement dépendante de l'homme, elle permet cependant de connaître l'avis sur les odeurs émises par tel échantillon. Elle est employée en Suède par des équipes mobiles chargées de contrôler le taux d'émission des odeurs nauséabondes dans les villes et les campagnes (24)

Il semble que les traitements proposés puissent être classés en deux catégories : pour les gros élevages on peut envisager de résoudre les problèmes de nuisance et de pollution par les méthodes faisant appel aux procédés d'aération, pour les petites exploitations l'utilisation de produits chimiques commerciaux est envisageable.

D E U X I E M E - P A R T I E

E T U D E - B A C T E R I O L O G I Q U E

Pour résoudre les problèmes de pollution et de nuisance provoqués par les lisiers de porc les études entreprises ont toutes porté sur la chimie des lisiers ; il est vrai qu'actuellement les mesures de pollution sont basées sur des critères chimiques. Il nous semble que les microorganismes qui se trouvent dans ces milieux jouent ou peuvent jouer un rôle dans les phénomènes de nuisance ou de traitement ; c'est pourquoi il nous a paru indispensable d'étudier la microflore des lisiers, peu de travaux étant actuellement publiés sur ce sujet. Le choix des milieux de dénombrement a été fait après avoir consulté la littérature ; nous avons remarqué que les études de flore intestinale ne requièrent pas de milieux particuliers.

De nombreux facteurs doivent affecter le milieu biologique qu'est le lisier, nous avons in vitro suivi l'action d'un certain nombre d'entre eux.

Enfin nous avons comparé la microflore des lisiers aux microflores intestinales et fécales afin de rechercher s'il y avait des analogies entre elles. Il nous paraît intéressant de savoir si la flore des lisiers est une flore caractéristique ou qu'elle dérive de la flore fécale.

A. Matériel et Méthodes

A. 1. Prélèvements

a) dans l'intestin

Aussitôt après l'abattage du porc nous prélevons l'intestin ou le segment d'intestin qui nous intéresse et nous le plaçons dans un récipient stérile. L'intestin est rapporté le plus rapidement possible au laboratoire ; nous prélevons aseptiquement 1g du contenu intestinal, nous réalisons une suspension avec 9 ml de diluant : tryptone-sel et nous agitons fortement pour avoir une bonne homogénéisation ; c'est à partir de cette suspension que nous effectuerons les différentes dilutions décimales et que nous effectuons les ensemencements sur les milieux de dénombrement ou les milieux sélectifs.

b) des fèces et du lisier

Les fèces sont prélevées sur animal vivant. Un gramme de l'échantillon est mélangé avec 9 ml de tryptone-sel plus quelques billes de verre pour favoriser l'homogénéisation.

Les fosses sont soit construites sous la porcherie mais des problèmes d'hygiène des bâtiments se posent, soit construites à l'extérieur un caniveau amenant le lisier des caillebotis à la fosse. Le contenu des fosses n'étant pas homogène il est indispensable pour pouvoir comparer nos résultats de prélever nos échantillons toujours à la même profondeur sous la surface ; pour cela nous utilisons un bocal stérile plombé que nous ouvrons à la profondeur choisie : 10 à 20 cm sous la surface, nous avons d'ailleurs au cours de notre étude comparé les microflores de surface et de fond (voir plus loin.). Si l'échantillon est suffisamment liquide nous effectuons directement l'analyse en opérant par la méthode des dilutions décimales (1ml = 1 g/9 ml Tryptone-Sel) si l'échantillon est trop épais pour être mesuré à la pipette nous pesons 10 g et nous effectuons une première dilution dans 90 ml de diluant en ajoutant dans le flacon quelques billes de verre pour faciliter l'homogénéisation.

A. 2. Milieux de dénombrement.

A partir des dilutions réalisées nous ensemencions 1 ml en profondeur ou 0,1 ml en surface selon les milieux.

La flore totale aérobie est dénombrée sur gélose dénombrement ; les boîtes sont mises à incuber 24-48 h à 30°C (flore mésophile) ou à 55°C (flore thermophile).

La flore totale anaérobie est dénombrée par étalement de 0,1 ml des différentes dilutions à la surface d'une gélose viande-levure additionnée de sang de cheval. Les boîtes de Pétri placées dans des jarres Gaspak sont mises à incuber à 37 ° C durant 72 h. De plus nous ensemençons également des milieux de Rosenow cystéiné et régénéré avec 1 ml des dilutions. Les tubes paraffinés sont placés en incubation à 37 ° C durant 48-72 h.

Le dénombrement des formes sporulées est effectué après chauffage à 80 ° C pendant 10 mn de l'échantillon. Pour les bactéries aérobies nous utilisons le milieu D1B amidon gélosé que nous incubons à 30 ° C ou à 55 ° C durant 24-48 h ; pour les bactéries anaérobies productrices d'hydrogène sulfureux nous employons le milieu viande-Foie 15‰ additionné de sulfite et d'acétate de fer, l'incubation a lieu à 37 ° C durant 1 à 5 jours. Après développement les colonies noires sont prélevées et réensemencées sur milieu Viande-Levure semi-liquide pour vérifier le type respiratoire de la bactérie enfin elles sont identifiées s'il s'agit de bactéries anaérobies strictes.

Pour dénombrer puis identifier les germes suivants nous utilisons des milieux spécifiques :

Les Entérobactéries et les Coliformes sont dénombrés respectivement sur VRBG et VRBL, l'incubation est faite à 30 ° C durant 24 h maximum. C'est à partir de ces milieux que nous isolons les bactéries destinées à l'identification en les réensemencant sur milieu de Kligler-Hajna. Pour dénombrer Escherichia coli nous employons le test de Mac Kenzie : dénombrement sur bouillon bilié au vert-brillant 48 heures à 37 ° C ; à partir des tubes positifs ensemencement d'un bouillon au vert-brillant et d'une eau peptonée, l'incubation se fait à 44 ° C durant 24-48 h.

Les dénombrements des Streptocoques du groupe D de Lancefield (streptocoques fécaux) ont été effectués sur les milieux de Rothe puis de Litsky à 37 ° C (44).

Les Lactobacillus sont dénombrés sur le milieu de Rogosa et al (52) ; le dénombrement est effectué après 48 h à 72 h d'incubation à 37 ° C. Pour l'identification : les colonies développées sur ce milieu sont ensemencées sur bouillon MRS (51) ensuite nous pratiquons par la méthode de l'API-System.

Les dénombrements de Staphylocoques et de Microcoques sont effectués en surface du milieu de Baird-Parker (2), après incubation 48 h à 37 ° C les colonies sont prélevées pour identification succincte et classement en Microcoques et Staphylocoques.

La recherche et le dénombrement des levures sont effectués sur milieu OGA additionné de terramycine ; l'incubation se fait à 20° C durant 1 à 5 jours.

Nous avons également recherché les Salmonelles, comme leur nombre dans un élevage sain doit être faible nous avons tout d'abord réalisé un préenrichissement en ensemençant 10 g (ou ml) de lisier dans 100 ml de bouillon ordinaire ; après 48 h d'incubation à 37 ° C nous ensemençons les milieux au sélénite et au tétrathionate + novobiocine, après 48 h à 37 ° C nous effectuons un isolement sur milieu au DCL (formule de Leifson modifiée par Hynes), les colonies susceptibles d'être des Salmonelles seront repiquées sur milieu de Kligler puis identifiées.

B. Flore intestinale du porc.

Elle a été de nombreuses fois étudiée parce qu'il paraît nécessaire de pouvoir la dominer en tant que moyen pour obtenir une production plus économique de la viande de porc. (Bridges et al.(12), Quinn et al.(58), Van der Heyde (72).).

B. A. Analyse qualitative . .

Certaines familles bactériennes ont été très souvent étudiées alors que d'autres sont restées dans l'ombre. Remarquons qu'il est parfois difficile d'établir s'il s'agit d'hôtes véritables de l'intestin ou bien simplement d'une flore de passage étant parvenue jus-u'au tractus stomaco-intestinal. Les Entérobactéries sont représentées principalement par les E. coli typiques ; Dickinson et Mocquot (22) isolent 1115 E. Coli sur 1568 souches étudiées. En fait on trouve également par ordre de fréquence d'isolement (22) : Aerobacter (cloacae) , Proteus, Shigella, Klebsiella, Providencia et Citrobacter freundii. La majorité des Lactobacillus isolés appartient à l'espèce acidophilus, ensuite on trouve plus ou moins fréquemment : L. Fermenti, L. salivarius, L. cellobiosus, L. brevis Fewins (27) Fuller (30) et Willsens (76).

A côté du genre Bactéroïdes, Fuller et Lévy (31) dénombrent 2.10^5 Sphaerophorus sp/g , il s'agit selon les auteurs vraisemblablement d'une flore de passage car ces germes sont nombreux dans le sol.

Au sujet de l'identification des Streptococcus différentes hypothèses s'affrontent dues en fait à l'absence d'un milieu sélectif pour ces germes ; pour Kenner (40), Raibaud (59) Fuller (30) le groupe viridans est dominant ; selon Barnes (5), Buttiaux (14) Moutoussis (53) et Morelis (52) il s'agit d'Entérocoques enfin selon Mieth (49) et Bartley (6) les deux groupes se trouveraient dans le même rapport.

D'après Uchida et al. (70) Clostridium perfringens serait un hôte normal de l'intestin du porc alors que Cl. sporogenes que l'on trouve également serait un hôte passager.

B. 2. Etude quantitative.

a) Bibliographie

Il paraît nécessaire de décrire tout d'abord l'intestin du porc : après l'estomac on trouve le duodénum long de 30 cm puis le jéjunum (6m), l'ileum, le caecum enfin vient le gros intestin qui se termine par le rectum. La flore intestinale va varier selon le segment en effet on note des différences de pH : le pH du duodénum est encore très acide alors que dans le gros intestin le pH est proche de la neutralité ; de même on trouvera des variations selon la fonction : absorption des aliments très grande dans le jéjunum.

Van der Heyde (74) a étudié la répartition topographique de la flore intestinale chez le porc (tableau 16)

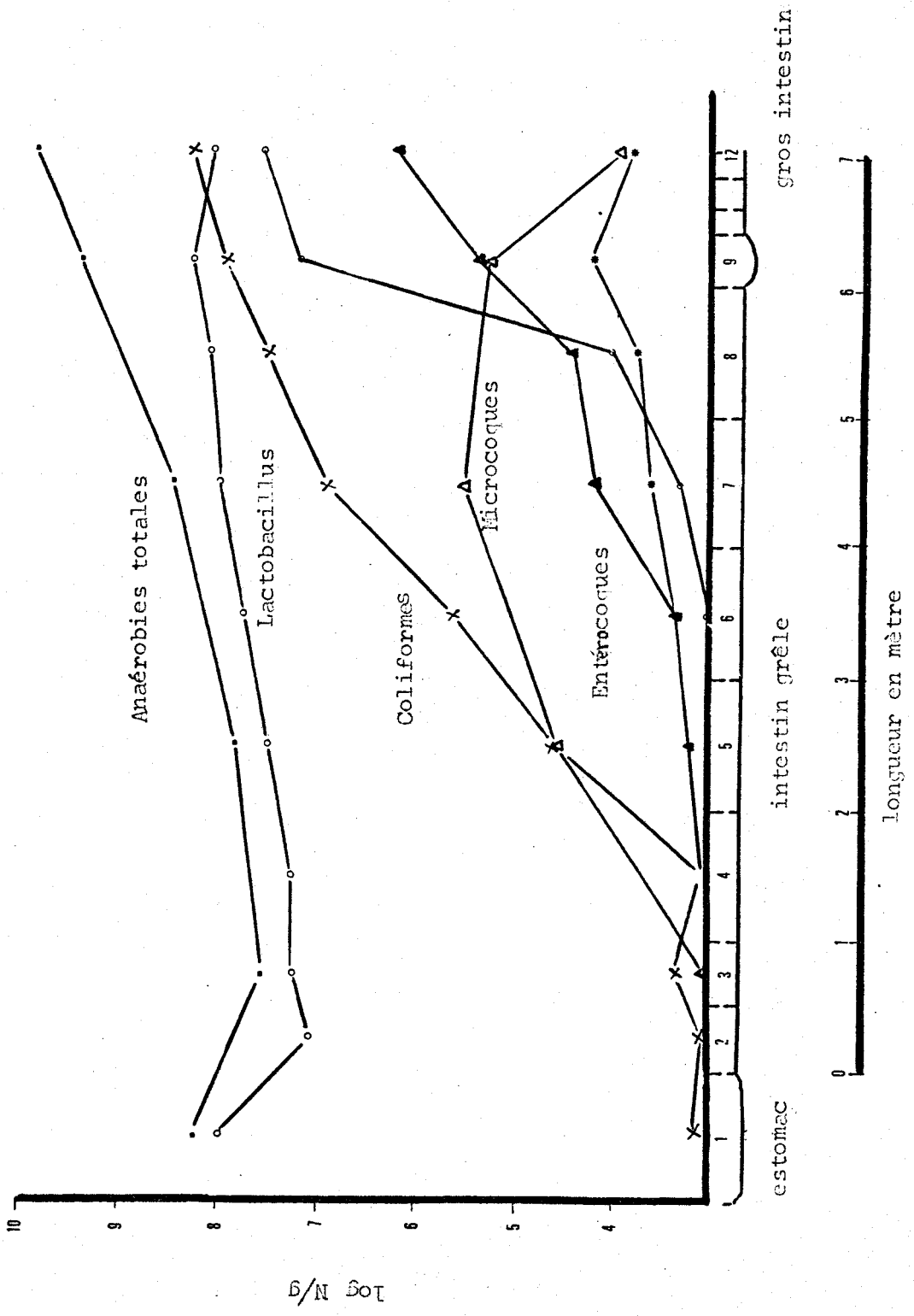


Tableau 16 : Composition de la microflore intestinale du porcelet (d'après Van der Heyde (74))



Ce tableau montre la composition moyenne de la flore stomaco-intestinale chez 26 cochons de lait, on constate donc une population élevée de lactobacillus entre l'estomac et l'anus ; si la concentration en E. coli est forte dans le gros intestin elle est relativement élevée dans l'intestin grêle.

Cette microflore peut évoluer avec l'âge : Smith puis Van der Heyde ont montré que les Bacteroidaceae devenaient la flore dominante avec les Lactobacillus et les Bifidobactéries (Uchida (70), Namioka (54) et Pesti (57)) chez le porc adulte.

D'autres facteurs tels que le mode d'alimentation, le type d'hébergement peuvent influencer la microflore intestinale, ces facteurs ont été étudiés et rassemblés par Van der Heyde (73). En réalité les modifications de la microflore dues à la composition de l'alimentation passent le plus souvent inaperçues dans l'analyse des fèces mais demeurent au contraire limitées à un endroit particulier du système stomaco-intestinal (Van der Heyde (74)).

b) résultats personnels.

Nous nous sommes limités à l'étude de 3 segments de l'intestin : le duodénum, le jéjunum et le rectum. Les porcs étudiés pesaient 80 kg ils étaient donc en fin d'engraissement. Les résultats sont regroupés dans le tableau 17.

Ces analyses montrent quelques variations quant à la composition de la microflore, les résultats enregistrés sont comparables avec ceux de la bibliographie qui donne surtout des résultats chez le porcelet. Nous avons d'ailleurs analysé le contenu du jéjunum de 2 porcelets de 18 kg :

	DUODENUM			JEJUNUM			RECTUM		
	Porc A	Porc B	Porc C	Porc A	Porc B	Porc C	Porc A	Porc B	Porc C
Flore totale aérobie.....	5,74	5,44	6,10	8,50	4,11	7,95	7,0	8,79	7,75
Flore totale anaérobie.....	5,0	4,0	5,0	8,77	5,90	9,15	9,71	10,17	9,24
Sporulées mésophiles.....				3,84	1,95	4,28	5,64	6,07	6,35
Spores de Clost. H ₂ S ⁺	0	0	0	1,00	1,00	1,60	7,07	3,69	4,11
Entérobactéries.....	3,4	4,7	3,7	8,84	4,30	8,70	8,21	8,13	8,92
Coliformes.....				8,60	4,04	8,20	8,17	8,06	8,51
E. coli.....	3,0	4,0	4,0	8,00	2,00	7,00	7,00	7,00	8,00
Strepto. D.....				5,00	2,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Lactobacillus.....				5,20	5,35	6,10	4,78	6,91	7,15

TABLEAU 17 : Analyse bactériologique de 3 segments de l'intestin de porc.
 Résultats exprimés en lcg du nombre de germes/g



	Porcelet D	Porcelet E
Flore aérobie totale.....	7,32	4,43
Flore anaérobie.....	7,90	5,00
Sporulées mésophiles.....	3,77	0,91
Spores Clost. H ₂ S ⁺	1,60	1,00
Enterobactéries.....	8,04	4,65
Coliformes.....	7,66	4,20
E. coli.....	8,00	3,00
Strepto. D.....	5,00	2,00
Lactobacillus.....	8,18	3,27

TABLEAU 18 : Composition de la microflore du jejunum chez deux porcelets de 18 kg en log du Nombre de germes/g.

Ici les différences entre les 2 microflores sont assez grandes mais nos résultats sont comparables avec ceux de Van der Heyde (74) pour le porcelet D ; pour le porcelet E il se peut que les chiffres faibles obtenus soient dus à un traitement aux antibiotiques trop fort.

En définitive il est très difficile de comparer les résultats lorsque les dénombrements ne sont pas effectués sur les mêmes milieux lorsque les porcs ne reçoivent pas la même alimentation et lorsque les conditions d'élevage sont différentes. Nous pouvons dire cependant que la microflore du jejunum du porcelet est en fait très proche de celle du porc adulte. (porcelet D et porcs A et C ou même porcelet E avec porc B). Van der Heyde (72) a au cours de ces études trouvé chez 2 porcelets un rapport très net entre la microflore et l'âge alors que chez 2 autres porcelets il n'y a pas de différence et "la question : dans quelle mesure l'âge, le régime alimentaire ou un autre facteur jouent-ils un rôle ici ? reste donc ouverte."

C. Flore fécale et flore des lisiers

C. A. Flore fécale.

Nous avons effectué cette analyse chez 4 porcs, la valeur moyenne obtenue est la suivante :

fllore aérobie totale	:	6,85
fllore anaérobie	:	9,72
Sporulées mésophiles	:	4,89
Spores de Clost. H ₂ S+	:	3,84
Enterobactéries	:	7,10
Coliformes	:	6,91
E. Coli	:	7,00
Strepto D	:	3,00
Lactobacillus	:	8,15
Staphylocoques	:	3,60
Levures	:	6,34
Moisissures	:	4,77

TABLEAU 19 : Composition bactériologique moyenne des fèces de porc en log du nombre de germes/g

Briggs et al. (13) dans une étude sur l'influence de l'alimentation sur la composition de la microflore fécale donnent les chiffres suivants : ils utilisent des milieux différents 128.10^6 .

Coliformes dans Mac Conkey's Broth. Nos résultats sont comparables à l'exception de la flore aérobie totale toujours plus faible dans notre cas.

Cette microflore ne serait pas influencée par l'alimentation selon Briggs et al (13) alors que Quinn et al. (58), Van der Heyde (74) pensent le contraire.

Echantillon	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Aérobies mésophiles	7,73	8,34	7,32	8,08	7,55	8,29	8,19	7,33	7,07	8,32	7,56	7,98
Anaérobies			7,92	8,07	9,54	9,66	8,00	10,00	10,51			
Sporulées mésophiles	6,70	4,85	5,07	5,00	5,87	3,25		4,92	7,23	5,05	4,81	4,60
Spores de Clostridium sulfites-réducteurs	1,00	2,77	3,00	2,00	3,04	3,14	3,77	1,00	1,00		0,95	2,17
Entérobactéries			5,07	4,51	4,77						5,56	
Coliformes	6,36	6,04	5,00	4,30	4,67		5,04	4,00	5,00	6,00	5,36	4,00
E. coli			6,00	4,00	4,00	4,00						
Streptocoques D			5,00	4,00		4,00	5,00				4,00	4,00
Lactobacillus			6,39	7,38		7,94	7,85	5,38	6,43	7,71	5,97	6,66

TABLEAU 20 : Composition bactériologique des lisiers de porcs
Résultats exprimés en log du nombre de germes/ml



C. 2. Flore des lisiers

a) Composition de la microflore

Nous avons regroupé dans le tableau 20 les résultats d'analyse effectuées dans un intervalle de 2 mois afin d'éviter d'éventuelles causes de variations dues au temps, à la température... Ces lisiers proviennent de porcheries de la région Nord-Pas de Calais.

Nous constatons donc une importante famille : celle des Lactobacillus, leur nombre est toujours voisin de 10^7 à 10^8 par gramme nous notons également l'importance des Entérobactéries et nous remarquons que cette famille est presque exclusivement constituée par E. coli, Geldreich et al (33) avaient d'ailleurs noté ce fait.. Nous remarquons une grande abondance de germes anaérobies, mais la méthode que nous employons pour les dénombrements n'est pas rigoureusement sélective, les bactéries anaérobies devrait être 30 % plus faible. La population des streptocoques D est très constante et stable : leur nombre varie de 10^4 à 10^6 germes/ml. Sur ce tableau ne figurent pas les dénombrements des Levures et des moisissures car le milieu utilisé ne donne pas entièrement satisfaction en effet des germes terramycine résistants se développent plus rapidement que les levures et les moisissures et empêchent ainsi leur croissance, nous pensons que le nombre des levures et des moisissures dans les lisiers analysés serait compris entre 10^2 et 10^5 germes/ml.

b) Etude qualitative

1 la flore aérobie totale

Les colonies isolées sur Gélose Dénombrement (GDN) sont repiquées sur milieu gélosé ordinaire, les bactéries sont classées selon leur morphologie et la coloration de Gram.

Sur 2620 colonies testées nous dénombrons 1120 bacilles à gram positif, 680 bacilles à gram négatif, 860 cocci à Gram positif et 60 levures. Parmi les bacilles à Gram positif il y a 320 bactéries et 780 qui ne sporulent pas, notons que parmi ces bactéries il y a de nombreuses formes coccobacillaires.

Nous avons également recherché quelques caractères de cette flore totale. Nous trouvons 4.10^5 germes protéolytiques sur 87.10^5 bactéries se développant sur milieu pour étude de la protéolyse, la flore totale sur GDN dans ce cas est de 61.10^6 germes/ml. De même sur milieu pour la recherche des germes urolytiques nous trouvons 17.10^3 germes urolytiques sur 92.10^3 germes se développant (flore totale aérobie 61.10^6 germes/ml).

2 Les bactéries sporulées

-Aérobies : sur milieu DTB amidon nous trouvons environ 8 types de colonies.

L'identification des espèces n'étant pas précise nous nous sommes contentés d'étudier les caractères biochimiques comme l'a fait Nuru et al. (55) Nous avons tout d'abord sélectionné sur ITB amidon gélosé des colonies d'aspect différent : couleur morphologie nous avons ainsi déterminé 8 types :

- type I : colonie sèche, blanche et irrégulière.
- type II : petite colonie muqueuse ôcre-jaune.
- type III : petite colonie marron-clair.
- type IV : colonie muqueuse, envahissante, formant des vésicules.
- type V : colonie mate à contours irréguliers.
- type VI : colonie jaunâtre à bord irrégulier, muqueuse
- type VII : colonie sèche beige, d'aspect rugueux
- type VIII : colonie sèche, jaunâtre irrégulière.

Les résultats des caractères biochimiques sont regroupés dans le tableau 21

Type	N° des souches	Color. de Gram	Morphologie	Formation de Spores	Catalase	Production d'indole	Production d'Acétoïne	Production d'uréase	Utilisation du Citrate	Fermentation du Glucose	Réduction des Nitrates	Type respiratoire
I	b ₁ b ₅ b ₉ b ₁₅ b ₂₄	+	β	+	+	-	-	-	-	+	-	A.An
II	b ₂ b ₁₀ b ₁₆ b ₂₀	+	β	+	+	-	+	-	-	-	-	Ae
III	b ₃ b ₆ b ₁₁ b ₂₁ b ₂₇	+	β	+	+	-	-	-	-	-	-	A.An
IV	b ₄ b ₇ b ₁₇	+	β	+	+	-	-	-	-	-	+	A.An
V	b ₈ b ₁₈ b ₂₂	+	β	+	+	-	+	-	-	-	-	Ae
VI	b ₁₂ b ₁₉ b ₂₆ b ₂₈ b ₃₀	+	β	+	+	-	-	-	-	-	-	A.An
VII	b ₁₃ b ₂₃ b ₂₉	+	β	+	+	-	-	-	-	-	+	A.An
VIII	b ₁₄ b ₂₅	+	β	+	+	-	+	-	-	-	+	A.An

B : batonnet

Ae : Aérobie

A. An : aérobie , Anaérobie facultative

TABLEAU 21 Caractères biochimiques des Bacillus isolés dans le lisier

Nous constatons que la classification morphologique est correcte, il n'y a que la réaction de production d'acétoïne qui présente quelques variations. Nous remarquons également qu'en fait nos 8 types morphologiques se ramènent à 3 types biochimiques puisque l'on peut regrouper les types II et V entre eux caractérisés surtout par leur type respiratoire et leur production d'acétoïne et qui ne réduisent pas les nitrates en nitrites enfin les types IV, VII et VIII qui sont aérobies- Anaérobies facultatives et qui sont capables de réduire les nitrates en nitrites. Nous pouvons donc conclure qu'il existe dans le lisier 3 espèces principales de Bacillus ; notons que les quelques colonies qui n'ont pas pu être classées parmi les 8 types morphologiques n'ont pas été étudiés.

-Anaérobies : Nous avons isolé les colonies productrices d' H_2S sur VF 15‰, ces colonies sont réensemencées sur VL 6‰ pour vérifier le caractère anaérobie des souches. S'il s'agit d'une bactérie anaérobie nous recherchons s'il s'agit de Clostridium perfringens sur milieu de Willis additionné de sérum antiperfringens A ; si la souche n'est pas Cl. perfringens nous faisons une galerie d'identification. Nous avons ainsi trouvé à côté de Cl. Perfringens, Cl Sporogenes.

3 Les microcoques et les Staphylocoques

La distinction entre Microcoques et Staphylocoques est basée principalement sur les caractères suivants : coloration de Gram, morphologie, catalase, type respiratoire et Glucose Mosaic.

Sur 50 souches isolées nous trouvons 40 % de Microcoques et 60 % de Staphylocoques. La recherche des Staphylocoques pathogènes s'est toujours révélée négative.

4 Les streptocoques du groupe D de Lancefield.

Nous avons utilisé pour les dénombrements deux milieux spécifiques. Les souches isolées sont réensemencées sur milieu de Barnes, milieu au tellurite de potassium et étude de quelques caractères biochimiques en particulier la fermentation des sucres.

Nous trouvons en quantité équivalente S. faecalis et S. faecium.

5 Les lactobacillus

Après dénombrement sur milieu de Rogosa, les colonies sont ensemencées sur bouillon MRS ; nous vérifions que nous avons des batonnets à gram +, catalase- et nous identifions les souches en ensemençant une galerie API-System.

Sur 30 souches testées nous trouvons :

<u>L. buchneri</u>	55 %
<u>L. casei casei</u>	16 %
<u>L. fermenti</u>	11 %

puis en proportion équivalente L. viridescens, L. plantarum et L. cellobiosus.

6 Les Entérobactéries.

La population des Entérobactéries est presque exclusivement composée par les Coliformes. On trouve en effet au moins 9 coliformes pour 10 Entérobactéries. De même nous constatons que la population des Coliformes surtout constituée par E. coli d'ailleurs les résultats obtenus à partir du test de Mac Kenzie sont quelquefois supérieurs aux chiffres des Coliformes sur VRBL.

Les colonies dénombrées sur VRBL sont repiquées sur milieu de Kligler pour vérifier leur aptitude à fermenter le Lactose. Les identifications des Coliformes sont effectuées à l'aide des tests IMC(I)C. Nous avons ainsi trouvé sur un échantillon de 100 souches 80 E.coli, 16 Citrobacter et 4 Enterobacter.

A partir des souches cultivant sur VRBG nous ensemençons un milieu de Kligler, les bactéries Glucose⁺ et lactose⁻ sont seules retenues, l'identification des germes est basée sur les quelques tests suivants :

	UREE	LYSINE	APP	Nbre de souches
<u>PROTEUS</u>	+	-	+	45
<u>PROVIDENCIA</u>	-	-	+	
<u>Shigella</u>	-	-	-	1
<u>Salmonella</u>	-	+ (-rare)	-	0

C) Facteurs pouvant influencer la composition bactériologique des lisiers

1 L'alimentation du porc.

Gayral (32) a montré que la composition chimique des lisiers de porc variait en fonction de l'alimentation ; Nuru et al (55) ont montré que la composition de la flore intestinale et de la flore fécale n'était pas influencée par l'alimentation. Quinn (58), Van der Heyde (72) pensent que s'il y a des variations de flore elles ont lieu dans l'intestin et sont ponctuelles, en fonction de l'aliment et du "lieu" de digestion de cet aliment.

Nous avons recherché si les flores qui se développaient dans les lisiers dans des élevages où l'alimentation était différente pouvaient présenter des variations

	A	B	C	D	E	F
Aérobies mésophiles	8,32	8,50	7,19	8,25	8,70	8,32
Aérobies thermophiles			4,14	3,97	4,56	
Anaérobies	8,00	8,00	6,00	8,00	9,00	9,00
Sporulées mésophiles		4,07	5,05	4,55	5,86	5,06
Sporulées thermophiles	4,89	3,34	3,74	3,83	3,44	3,75
Spores Clost. H ₂ S ⁺	2,77	1,00	3,49	2,23	2,00	2,47
Entérobactéries	6,51	6,70	6,74	6,79	5,53	7,39
Coliformes	6,04	6,11	4,00	5,65	4,51	6,77
Streptocoques D	5,00	5,00	5,00	4,00	4,00	4,00
Lactobacillus	7,79	7,11	6,92	6,62	6,62	6,87

A : nourriture de ferme

E : farines

B, C, D : granulés d'origine différente

F : lactosérum

TABLEAU 22 : Influence de l'alimentation

Résultats exprimés en log nombre de germes par ml

Nous constatons qu'il n'y a pas d'influence marquée des types d'alimentation sur la microflore des lisiers. Nous avons d'ailleurs constaté que la composition chimique de ces lisiers était très proche il n'y a alors aucune raison d'espérer trouver des microflores différentes.

2 L'âge

Les flores intestinales des porcs et des porcelets présentant quelques variations il est possible que ces différences se retrouvent au niveau des lisiers. Nous avons analysé deux lisiers d'un même élevage, la base de l'alimentation est la même celle des porcelets étant moins chargée en antibiotiques.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

	Porc 50 kg-80 kg	Porcelet 15 à 30 kg
flore aérobie totale	8,32	7,53
Sporulées mésophiles	-	3,07
Spores Clost. H ₂ S ⁺	2,77	1,00
Entérobactéries	6,51	6,47
Coliformes	6,05	5,07
Streptocoques D	5,00	5,00
Lactobacillus	7,79	7,35
Annérobies	8,00	8,00
Levures et Moisissures	5,10	3,84

TABLEAU 23 : Influence de l'age sur la composition bactériologique du lisier
Résultats exprimés en Log du nombre/g

Nous ne constatons pas quantitativement de différence, nous notons cependant un nombre plus faible de Coliformes chez les porcelets. Il se peut que les différences se situent au niveau des espèces et ici nous ne les mettons pas en évidence.

3 Variations au cours d'une année.

Cette étude a été effectuée en effectuant un prélèvement par mois durant une année dans une fosse de 100 m³ extérieure à la porcherie. Notons qu'au cours de notre étude la fosse a été vidangée deux fois en mars et en août. Le premier prélèvement a été effectué au mois de novembre. Les résultats sont regroupés dans le tableau 24

Echantillon n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Aérobies mésophiles	7,33	7,56	7,63	7,27	7,55	7,44	7,89	7,50	7,78	7,59	8,52	8,00
Anaérobies	7,00	7,97	7,97	10,80	10,80	7,77	7,20	7,20	7,20	7,20	7,20	7,20
Sporulées mésophiles	4,92	4,80	5,23	5,90	4,92	5,20	5,12	4,96	5,23	5,23	5,23	5,23
Spores de Clostridium sulfito-réducteurs	3,77	0,95	2,17	1,07	1,07	1,04	1,04	3,20	3,20	3,20	3,20	1,00
Entérobactéries	5,22	5,56	5,54	5,37	5,66	5,95	5,30	5,53	5,65	5,40	5,62	5,25
Coliformes	4,90	5,36	5,49	5,08	5,34	5,35	4,98	4,00	5,00	5,00	5,35	5,00
E. coli	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Streptocoques D	4,00	4,00	5,00	5,00	5,00	5,00	4,00	4,00	4,00	4,00	5,00	5,00
Lactobacillus	5,38	5,98	6,12	7,25	6,91	7,83	6,59	6,60	6,78	6,11	7,57	7,31

TABLEAU 24 : Evolution de la flore au cours d'une année
 Résultats exprimés en log du nombre de germes/ml.



Nous ne constatons pas de variation importante des principales espèces au cours d'une année. Nous remarquons cependant sur le tableau 24 qu'il y a d'assez grandes fluctuations de la population de Lactobacilles, la flore totale est très stable sauf au cours des 2 derniers prélèvements où elle semble augmenter.

4 Influence du lieu de prélèvement.

Pour les analyses précédentes les prélèvements sont effectués comme nous l'avons signalé à 10-20 cm sous la surface du lisier dans la fosse. Dans le cas présent, les prélèvements ont été effectués à deux niveaux : en surface et au fond de la fosse.

Les résultats donnés dans le tableau 25 concernent 4 fosses. Nous ne constatons pas de différence importante si ce n'est un nombre plus élevé de bactéries anaérobies ou à tendance anaérobie (Lactobacillus) en fond de fosse. La flore aérobie totale qui regroupe de nombreuses espèces aérobie-anaérobie facultatives est stable sur toute la hauteur de la fosse, de même les Enterobactéries, les Streptocoques du groupe D qui possède ce même caractère physiologique se retrouvent sur toute la hauteur.

	Lot A		Lot B		Lot C		Lot D	
	Fond	Surface	Fond	Surface	Fond	Surface	Fond	Surface
Aérobies mésophiles	7,83	7,30	8,40	7,35	7,27	7,33	8,00	8,52
Anaérobies	10,11	7,93	11,28	10,34	11,17	10,00		
Sporulées mésophiles	5,53	3,07	6,00		5,71	4,92		
Spores de Clostridium sulfito- réducteurs	3,00	3,70	3,00	2,60	3,30	3,77	1,00	
Entérobactéries	5,80	5,07	4,95				5,25	5,62
Coliformes	5,80	5,01	4,00	4,00	5,00	4,00	5,00	5,00
Streptocoques D	4,00	5,00	4,00	4,00			5,00	5,00
Lactobacillus	8,00	6,39	7,38	6,56	6,24	5,38	7,32	7,58

Tableau 25

C. 3. Comparaison des microflores : fécale et du lisier.

Nous avons préféré, à la comparaison de chiffres venant d'analyses différentes, réaliser ce que nous avons appelé une cinétique de flore. En effet nous avons effectué des prélèvements d'excréments, de lisier dans le caniveau allant du caillebotis à la fosse (temps de séjour maximum du lisier dans ce caniveau une demi-journée car il y a écoulement continu) et dans la fosse ; de plus nous avons effectué sur un porc abattu de l'élevage un prélèvement de matières rectales. Les résultats donnés dans le tableau 26 montrent qu'il n'y a pas une coupure nette entre la flore des excréments du porc et la flore des lisiers, nous ne constatons que des variations attendues comme l'augmentation de la flore aérobie totale dans le caniveau et à la surface du lisier en fosse accompagnée en ces lieux d'une diminution de la flore anaérobie. Nous remarquons également qu'une partie de la flore colibacillaire est détruite dans les excréments ayant quelques heures (lisier de caniveau) ; ce phénomène de nécrose des E. coli a été signalé par Van der Heyde (74), il serait d'après lui accompagné d'une nécrose des lactobacillus, phénomène qui n'est pas observé ici.

Il semble donc d'après ces résultats que la microflore des lisiers dérive de la microflore fécale mais le lisier étant déséquilibré les microorganismes qui s'y trouvent ne font que se renouveler parce qu'ils ne trouvent pas les conditions optimales de croissance.

	Rectum	Excréments	Lisier de caniveau	Lisier de fosse (en surface)	Lisier de fosse (en profondeur)
Aérobies mésophiles	7,00	6,85	8,72	7,32	7,82
Anaérobies	9,71	9,72	8,90	7,92	10,11
Sporulées mésophiles	5,64	4,89	5,26	5,06	5,53
Sporulées thermophiles	4,69	4,69	4,04	3,69	3,00
Spores de Clostridium H ₂ S+	7,07	3,83	2,77		3,69
Enterobactéries	8,20	6,78	5,34	5,07	5,80
Coliformes	8,14	6,90	5,20	5,00	5,80
Streptocoques D.	5,00	3,00	5,00	5,00	4,00
Lactobacillus	6,78	8,14	8,36	6,39	8,00

TABLEAU 26 Cinétique de flore

Résultats exprimés en log du nombre de germes/ml.



D. Conclusion

La microflore des lisiers apparaît très stable ; nous notons quelques variations dont l'origine est difficile à expliquer. Les identifications des germes bactériens ont été volontairement limitées au genre ; l'étude des espèces aurait peut être apportée quelques précisions sur la nature des variations, nous avons cependant l'exemple d'E. coli et nous constatons qu'au cours d'une année les variations de population de cette espèce sont très faibles. Il nous semble intéressant de rappeler à nouveau que la flore des lisiers dérive de celle des excréments et vraisemblablement de celle des urines, cette flore se trouve dans un milieu clos et elle ne trouve pas de conditions favorables à son développement. Les microorganismes constitutifs de cette microflore vont se contenter de se renouveler, de subsister. Nous pensons que pour assister au développement de cette microflore il faudra modifier les propriétés physiques et chimiques du lisier ; c'est l'étude entreprise dans la 3e partie.

T R O I S I E M E - P A R T I E

ESSAIS DE MODIFICATION DE LA MICROFLORE

L'étude des facteurs susceptibles d'influencer la microflore peut apporter des indications précises pour l'application de traitements ultérieurs. Nous avons donc étudié l'influence des facteurs physiques et chimiques sur la microflore des lisiers et sur les odeurs. Les traitements des lisiers étant onéreux, la réutilisation des effluents de porcherie comme substrats de croissance pour les microorganismes est à envisager. Les essais de culture ont été effectués soit directement sur le lisier soit après addition à ce dernier d'une source de carbone ici le lactosérum autre déchet de l'industrie alimentaire à réutiliser.

A. Matériel et Méthodes

A. 1. Etude des modifications de la microflore

Les variations de la microflore des lisiers sont suivies par dénombrement avant et après le traitement. Lorsque nous étudions l'action d'un facteur sur un germe précis ou lors des productions de biomasse nous employons alors des milieux sélectifs (cf 2^e partie).

A. 2. Analyses sensorielles

Elles ont été effectuées systématiquement après chaque traitement. Chaque membre du jury attribue aux échantillons une note selon l'échelle de Sobel (66)

Une analyse sensorielle a tout d'abord été effectuée sur du lisier stérilisé et réensemencé avec différents germes Clostridium, E. coli, Lactobacillus afin de rechercher quels étaient les germes responsables des mauvaises odeurs, chaque espèce testée est réensemencée à une concentration aussi proche que possible de la concentration normale dans le lisier frais.

Après 48 heures de culture une analyse sensorielle est effectuée ; les résultats sont regroupés sur les figures 1 et 2 . Les conclusions que nous pouvons tirer de ces analyses sont les suivantes :

- tout d'abord nous constatons que le jury distingue bien l'intensité et l'acceptabilité de l'odeur.
- il semble d'après ces premiers résultats que l'intensité des odeurs émises par les Lactobacillus réensemencés dans du lisier soit plus faible que celle produite par les autres microorganismes.
- par contre cette distinction ne peut pas être faite lorsqu'on étudie l'acceptabilité de l'odeur.

Cette expérience préliminaire nous a conduit à effectuer une grande partie des essais de production de biomasse avec des Lactobacillus germes qui produisent une odeur acidulée dans le lisier.

Notons encore que lors des essais de production de biomasse le lisier est désodorisé par passage sur charbon actif afin d'éliminer toute trace d'odeur, ensuite il est soit stérilisé soit utilisé directement.

fréquence

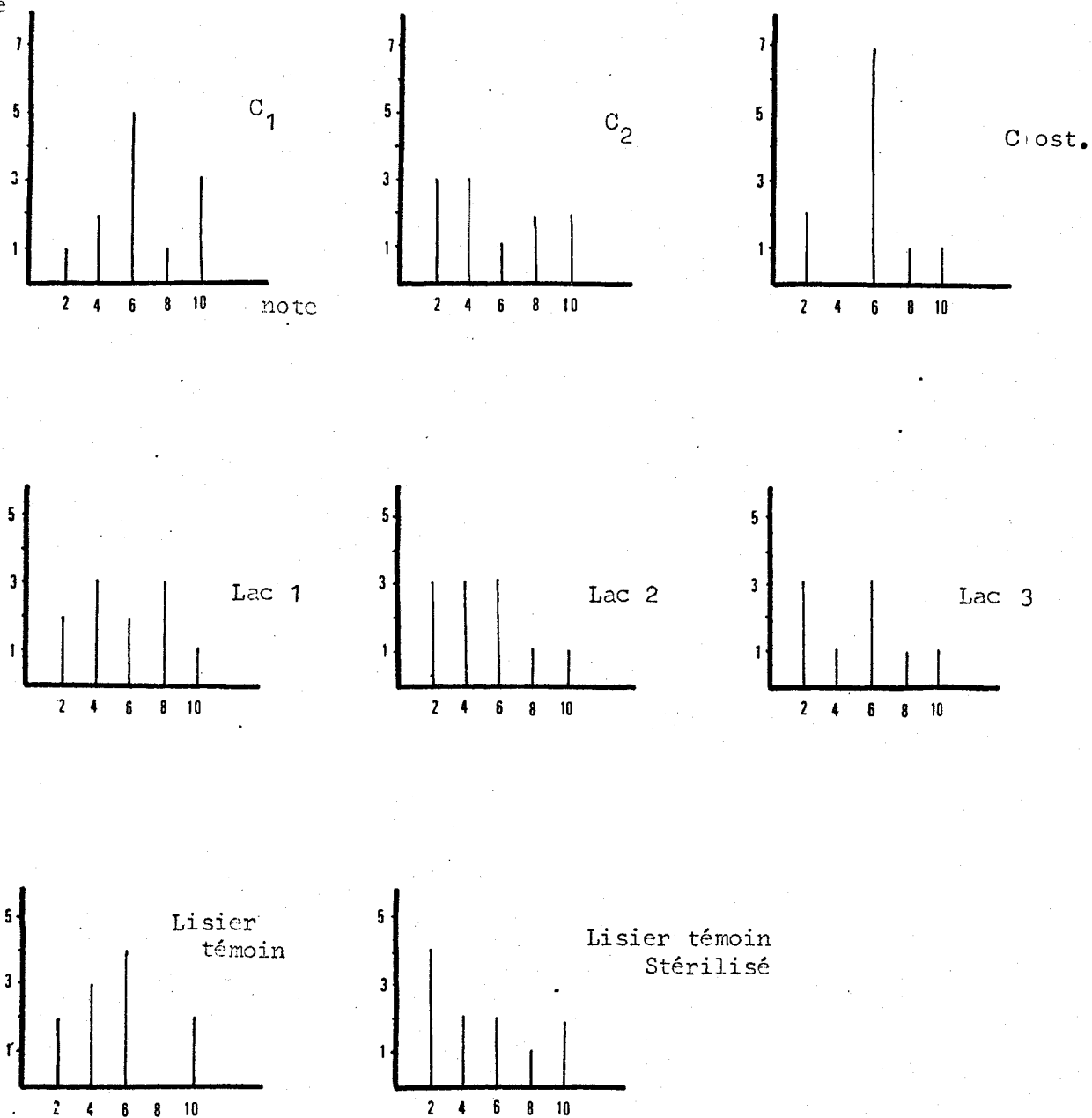


figure 1 : Intensité des odeurs

fréquence des notes obtenues après réensemencement du
lisier par différentes souches.



fréquence

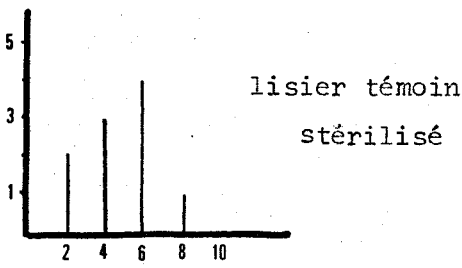
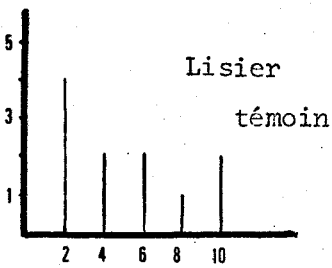
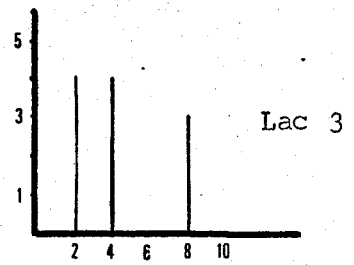
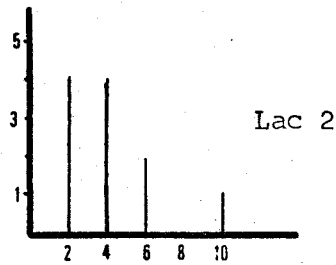
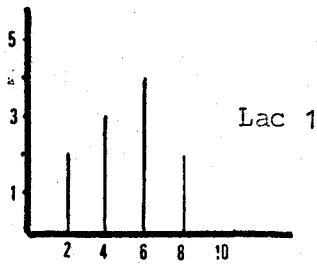
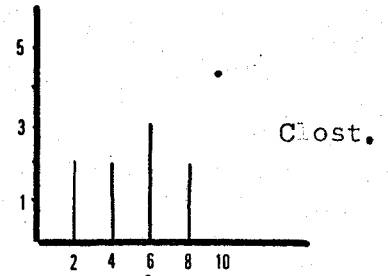
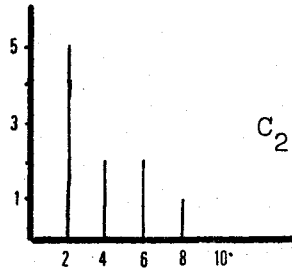
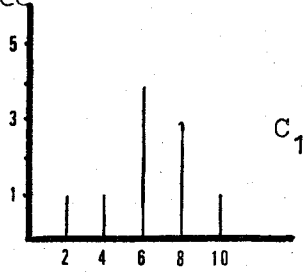


figure 2 : Acceptabilité des odeurs

fréquence des notes obtenues après réensemencement du
lisier par différentes souches



B. Influence des facteurs physiques et chimiques

B. 1. La température

Nous avons suivi l'évolution de la microflore aérobie totale à différentes températures durant 8 jours

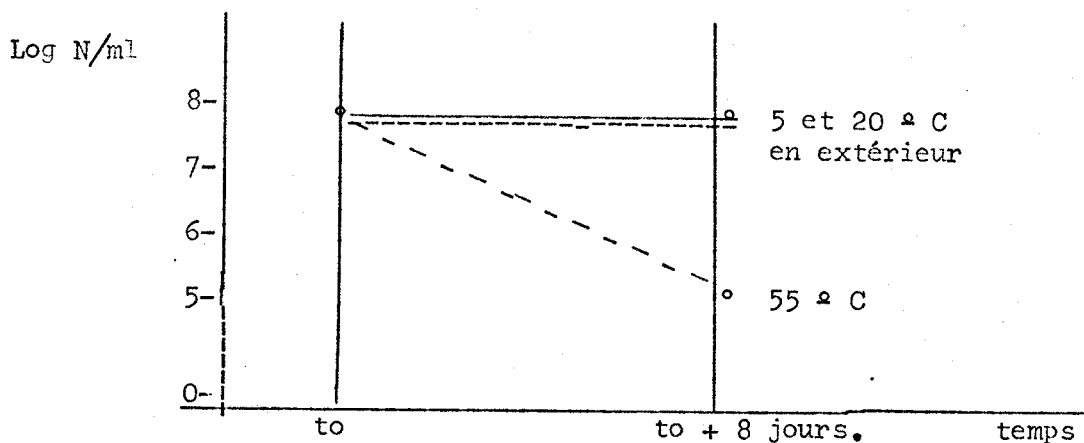


figure 3 : Evolution de la microflore en Log du Nombre de germes/ml à différentes températures.

Nous constatons que seule la température de 55 ° C affecte la microflore totale. Parallèlement à cette expérience, nous avons dénombré entre ces 2 dates les bactéries thermophiles dont le logarithme du nombre de germes passe de 3,99/ml à 3,81/ml. Ces bactéries thermophiles ne profitent donc pas de cette température favorable pour se développer. Nous avons également suivi l'influence du stockage à 4 ° C durant 4 jours. Nous avons constaté que seul le nombre des Spores de Clostridium sulfito-réducteur augmente, les autres espèces ne sont pas affectées par cette température après 4 jours de stockage.

A 30 ° C, l'étude a été faite durant 27 jours, les résultats sont regroupés dans le tableau suivant :

	to	to + 2 jours	to + 13 jours	to + 20 jours	to + 27 jours
Aérobies mésophiles...	7,55:	7,34	7,00	7,27	6,41
Aérobies thermophiles.	4,86:		4,09		4,27
Anaérobies.....	9,54:	10,34	8,43	7,69	
Sporulées mésophiles.	5,86:	6,00	5,47	5,69	5,69
Sporulées thermophiles	5,95:	5,00	4,81		
Spores de Clost. H ₂ S+	2,20:	2,60	2,95	3;14	3,95
Entérobactéries.....	4,77:	4,94	4,94	3,14	3,56
Coliformes.....	4,67:	4,60	4,69	2,56	2,00
Streptocoques D.....	4,00:	4,00	4,00	5,00	4,00
Lactobacillus.....	7,03:	7,39			6,29

TABLEAU 27 : Evolution de la microflore à 30 ° C, résultats exprimés en log du nombre de germes/ml.



Nous constatons comme précédemment une augmentation des formes sporulées. Pour la flore aérobie totale nous constatons un "décrochage" au 27^e jour de stockage, ce décrochage se produisant au 20^e jour pour les Entérobactéries.

Entre 4^e et 30^e ° C la microflore des lisiers n'est pas modifiée si l'on maintient ces températures durant quelques jours.

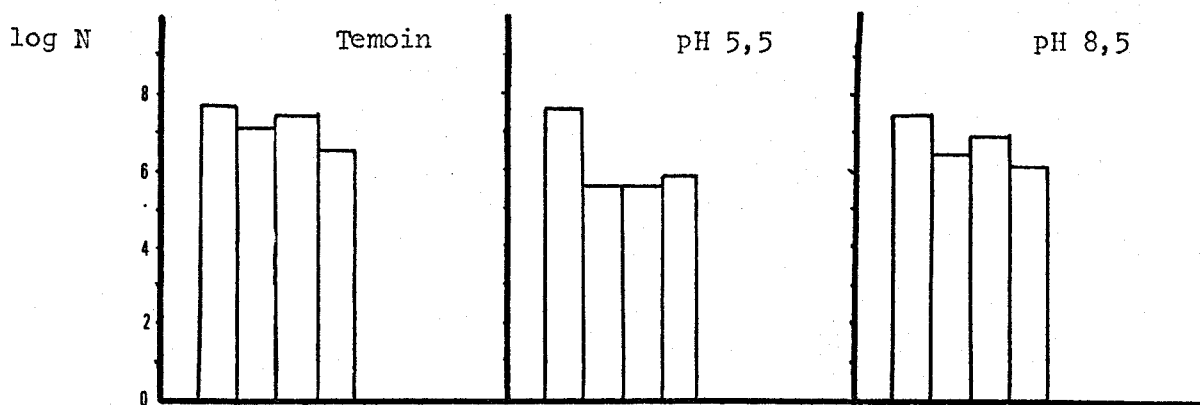
Les analyses sensorielles effectuées ne révèlent aucune modification de l'odeur. Notons cependant qu'à 55 ° C l'odeur est mieux acceptée par l'ensemble du jury (odeur de fumier).

B. 2. Action du pH

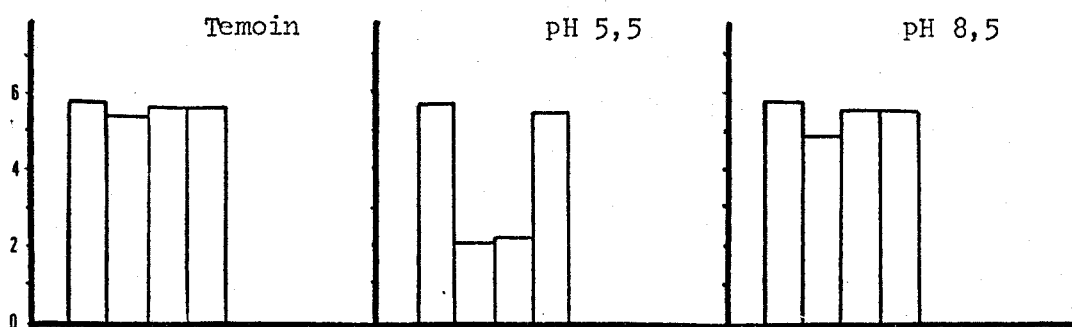
a) Etude des variations de la microflore

Nous avons étudié l'action du pH sur la microflore des lisiers afin de voir si une flore acido ou alcalino-tolérante n'allait pas se substituer à la flore naturelle. Les résultats de l'action de 2 pH différents 5,5 et 8,5 sont regroupés dans les tableaux suivants 28 a et b l'acidification a été effectuée avec H_3PO_4 N et l'alcalinisation du lisier avec NaOH N ; les analyses ont lieu tous les 8 jours.

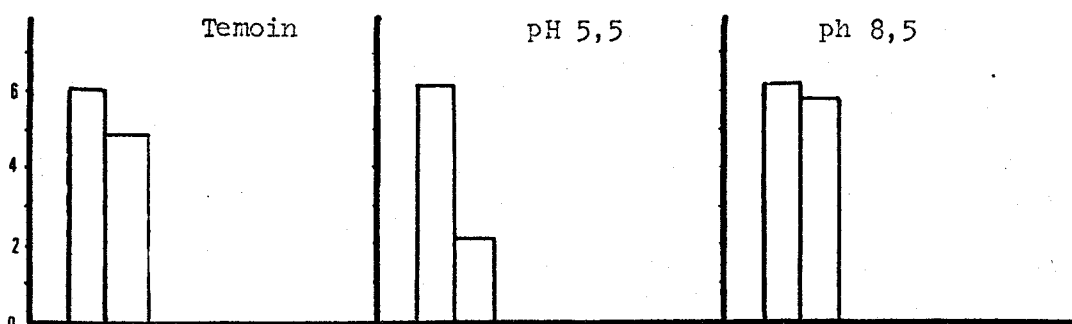
Nous constatons qu'un pH alcalin de 8,5 a peu d'action sur la microflore, nous notons une augmentation des formes sporulées de Clostridium sulfito-réducteurs, les autres espèces étant stables à l'exception des Entérobactéries qui disparaissent après 15 jours. Les pH acides sont beaucoup plus agressifs nous notons une disparition des Entérobactéries après 15 jours une diminution plus marquée en pH alcalin des Anaérobies. Les formes sporulées mésophiles sont également affectées par ce pH entre le 2^e et le 3^e prélèvement mais la population semble reconstituée lors du 4^e prélèvement, nous pouvons peut être expliquer ce phénomène par le fait suivant : en réalité le pH du lisier ne reste pas à 5,5 durant tout le temps de l'expérience il a tendance à augmenter nous avons noté qu'au 7^e jour il est de 5,7 au quinzième jour de 6,1 et qu'après 20 jours il est de 7 ensuite il passe très rapidement voisin de 8. Lorsqu'au départ d'une expérience le pH est de 7 il est de 7,6 après 8 jours quand on laisse le lisier évoluer seul.



FLORE AEROBIE MESOPHILE



SPORULEES MESOPHILES



SPORULEES THERMOPHILES

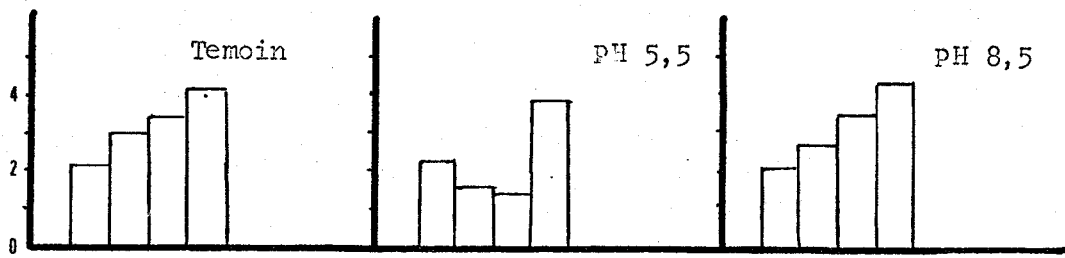
TABLEAU 28 a : ACTION DU pH SUR LA MICROFLORE.

8 jours entre chaque prélèvement.

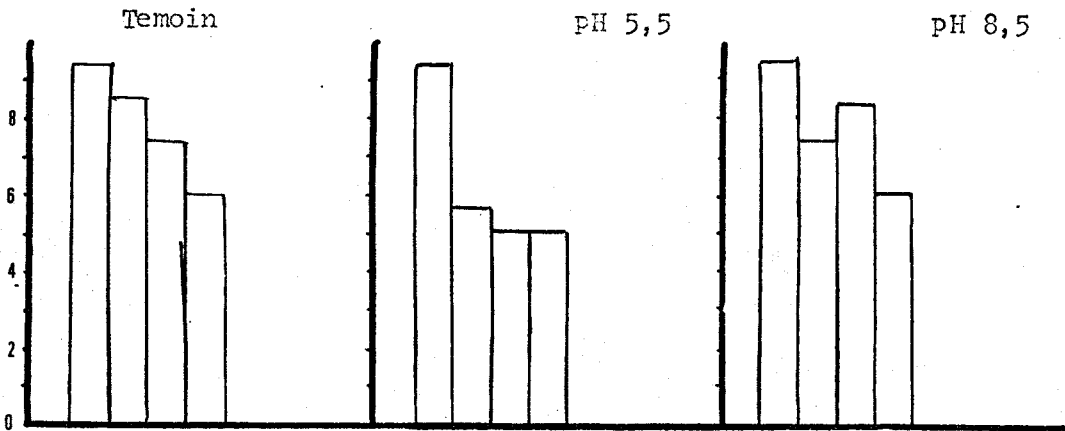
Résultats exprimés en log du Nombre de germes/ml.



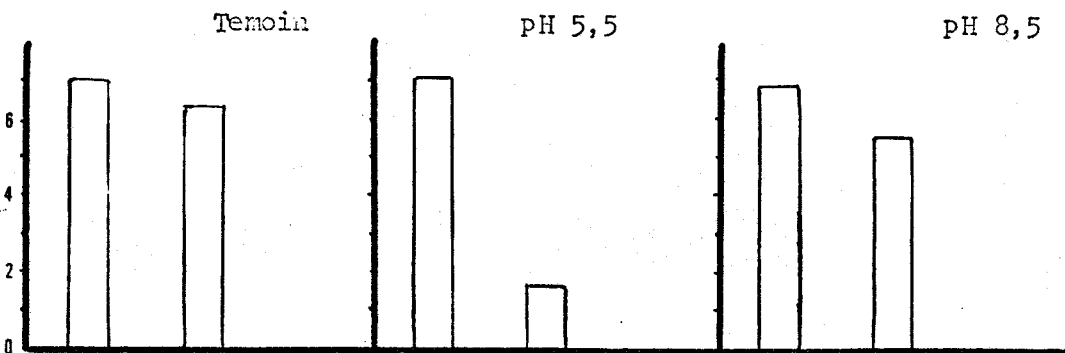
Log N



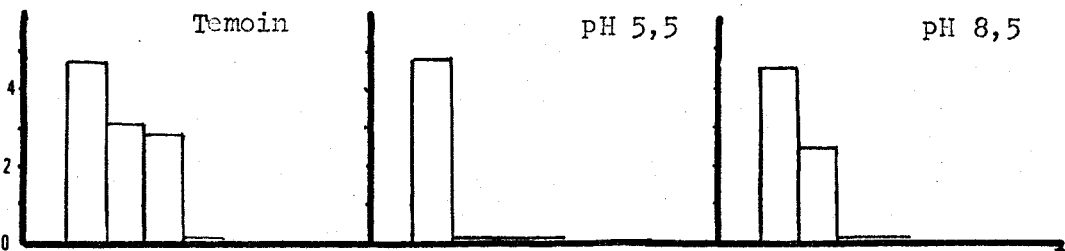
SPORES DE CLOSTRIDIUM SULFITO-REDUCTEURS



ANAEROBIES TOTALES



LACTOBACILLUS



ENTEROBACTERIES

TABLEAU 28 b : Action du pH sur la MICROFLORE
8 jours entre chaque prélèvement
Résultats exprimés en log du nombre de germes/ml.



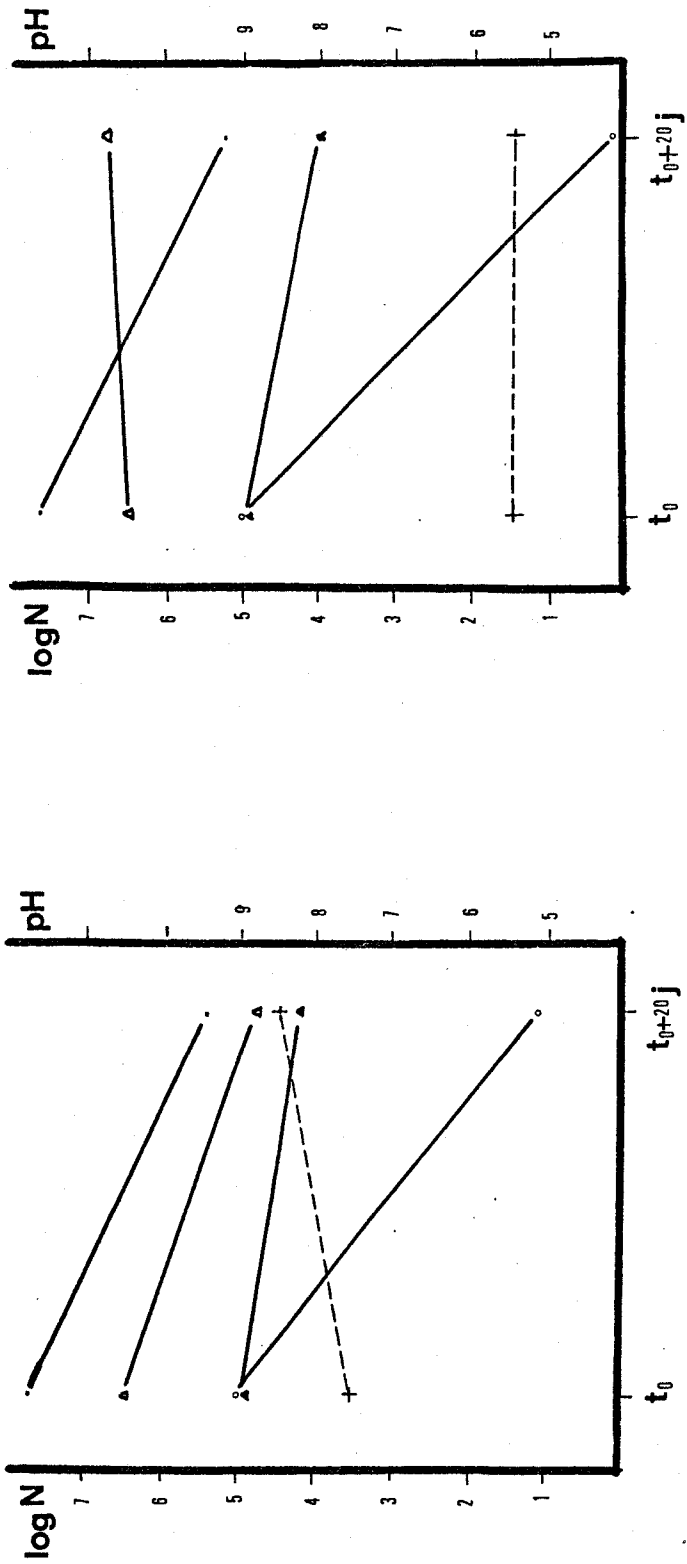
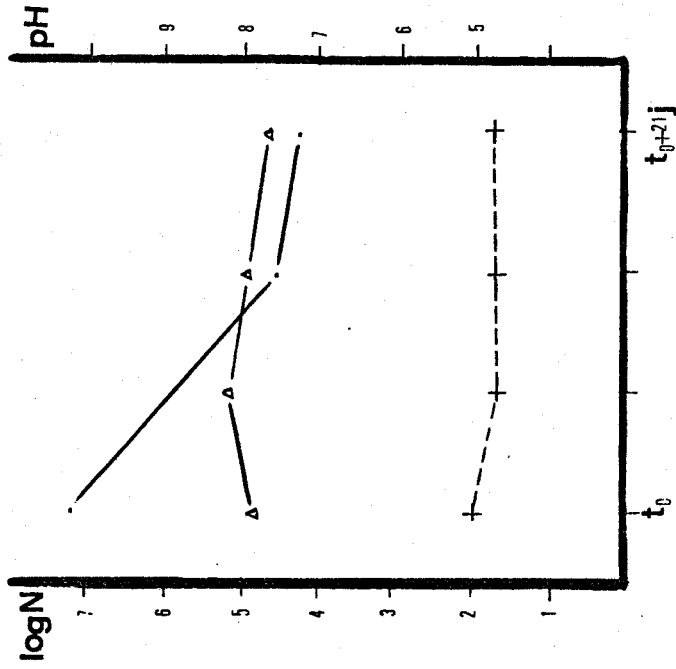
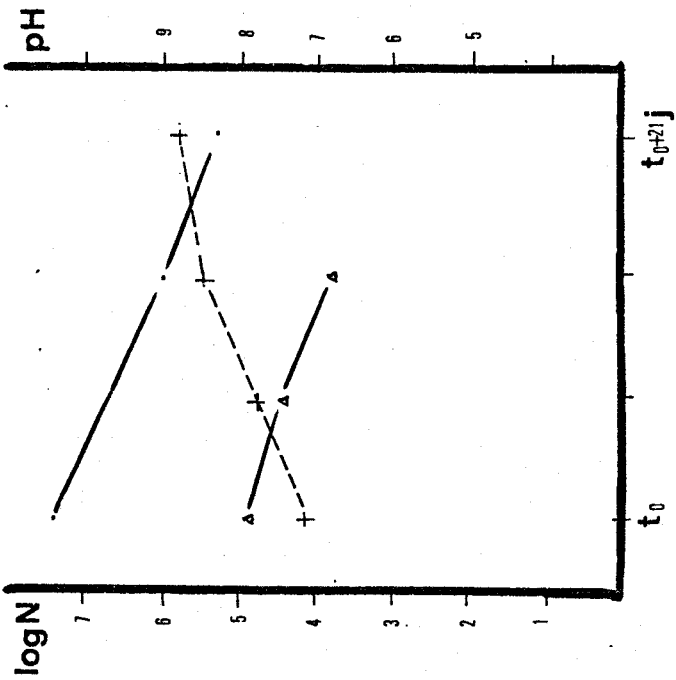


Figure : 4 : Evolution de diverses espèces dans un lisier acidifié à pH 5,5 avec NaH_2PO_4 . Résultats exprimés en log. du nombre de germes/ml



Nous avons également suivi l'évolution de la microflore dans des lisiers acidifiés avec des acides organiques : acides lactique et propionique. Les résultats enregistrés avec l'action de l'acide lactique sont donnés dans la figure 5



Lot témoin

Lot expérimental

—•— Aérobies mésophiles

- - -•- - - Lactobacillus

+ - - - - + PH

Figure 5 : Evolution de la microflore dans du lisier acidifié avec de l'acide lactique.

Résultats exprimés en log du Nbre de germes/ml.



Nous constatons que le pH reste stable durant 21 jours mais l'évolution des bactéries aérobies totales et des Lactobacillus germes acidophiles est sensiblement la même, les Lactobacillus se maintenant mieux à pH acide. Les résultats enregistrés avec l'acide propionique sont analogues.

b) Analyses sensorielles.

Lorsque l'on acidifie le lisier avec HCL ou H_3PO_4 nous constatons que l'odeur diminue en général ou plus exactement elle est mieux acceptée par le jury. Par contre à pH alcalin il ne semble pas qu'il y ait des modifications d'odeur.

échelle de Sobel

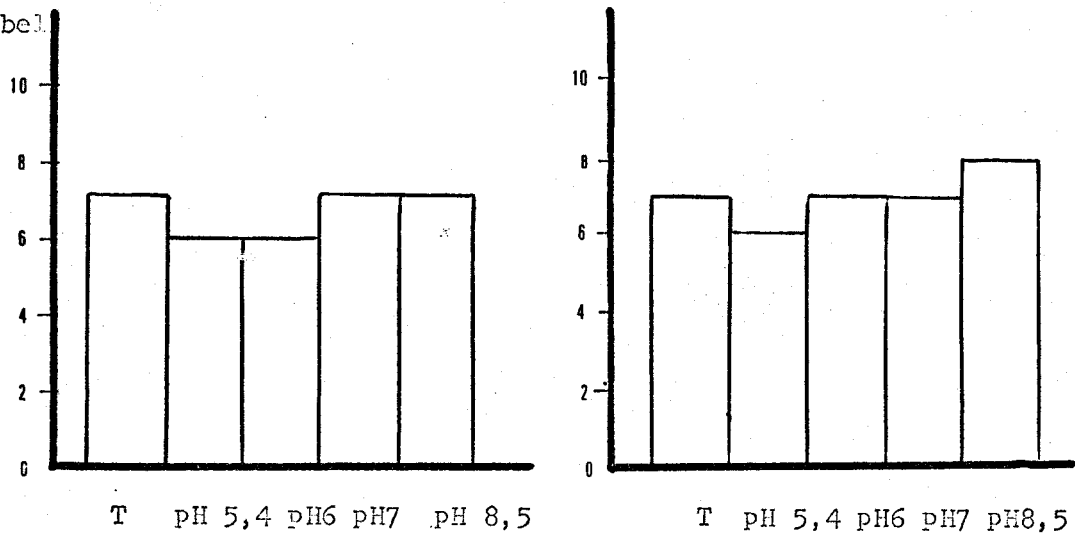


figure 6 : Intensité des Odeurs

échelle de Sobel

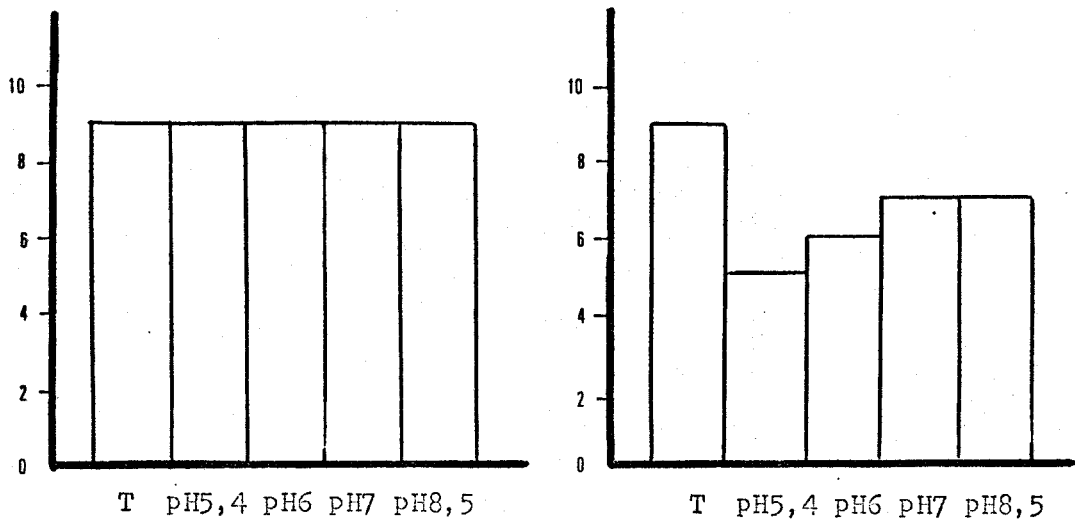


figure 7 : Acceptabilité de l'odeur

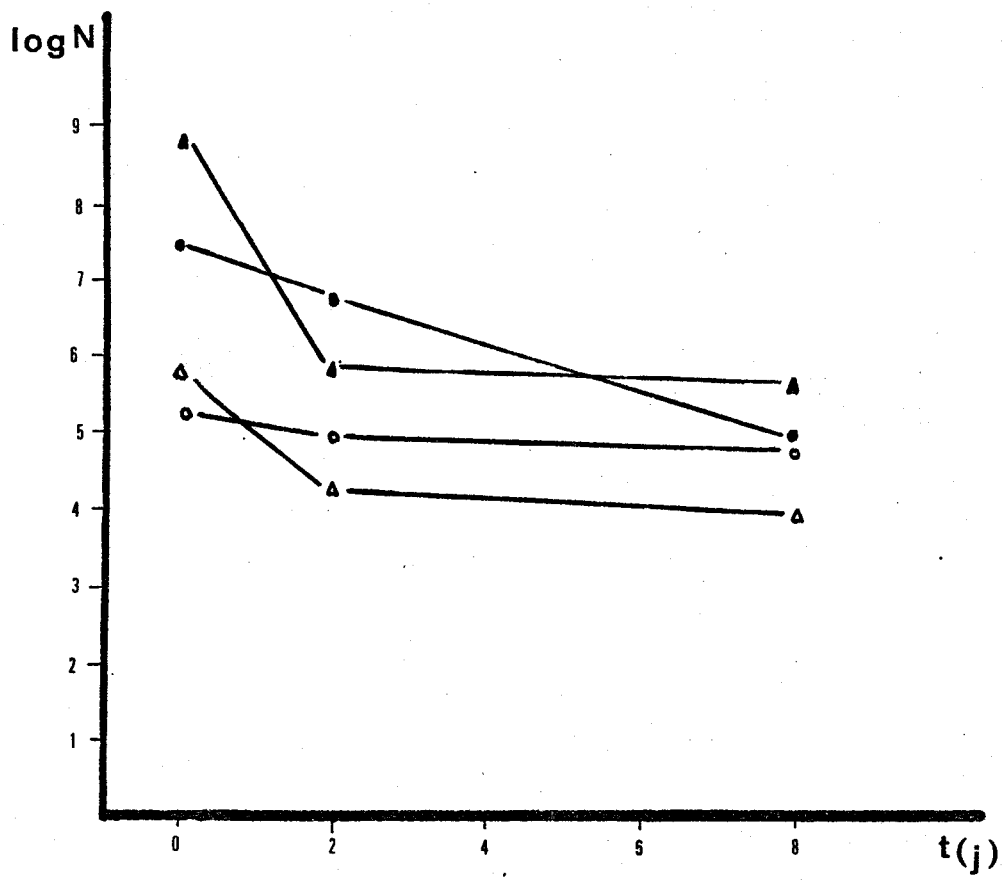


Dans les essais d'acidification avec l'acide lactique et l'acide propionique substances qui ont déjà une odeur assez forte ; le mélange des odeurs est fort peu apprécié par l'ensemble du jury.

B. 3. L'aération

a) Lisier en fiole.

Nous avons vu dans la 1^{ère} partie l'influence de l'aération sur la réduction des odeurs de lisier, cette action a-t-elle une répercussion sur la microflore des lisiers ? Nous avons tout d'abord suivi l'évolution de la microflore dans un petit volume de lisier agité sur agitateur rotatif à 28 ° C.



● — ● Mérobies mésophiles ● — ● Coliformes
 ▲ — ▲ Lactobacillus ▲ — ▲ Anaérobies (Rosenow)

Figure 8 : Evolution de la population bactérienne du lisier après agitation en fiole.



Nous constatons donc que cette agitation n'est pas très efficace sur la flore puisque les germes aérobies sont détruits et qu'en général il y a une diminution globale de la microflore des lisiers.

L'incidence d'une telle aération sur l'odeur est très faible, elle est seulement ressentie par un quart du jury.

Nous avons également suivi l'action sur la microflore d'une aération par bullage d'air dans 100 ml de lisier, les résultats sont regroupés dans le tableau 29 et exprimés en log du nombre de germes par ml

	to	to + 6 jours	to + 12 jours
flore aérobie mésophile.	8,17	8,69	8,19
Sporulées mésophiles....	4,10	3,00	3,00
Sporulées thermophiles..	3,30	3,00	3,00
Spores de Clost. H ₂ S+....	3,60	4,69	4,00
Coliformes.....	6,07	4,00	4,00

TABLEAU 29 : Aération par Bullage d'air
Evolution du nombre des espèces/ml en fonction du temps

Nous remarquons dans ce cas que la flore aérobie totale augmente légèrement, le reste de la flore est peu affecté à l'exception des Coliformes dont le nombre décroît dès le 6e jour, notons qu'à ce moment le pH est déjà alcalin.

L'action d'un gaz inerte : l'azote sur les populations bactériennes du lisier s'effectue comme précédemment il s'agit d'un bullage de gaz dans 1000 ml de lisier (tableau 30)

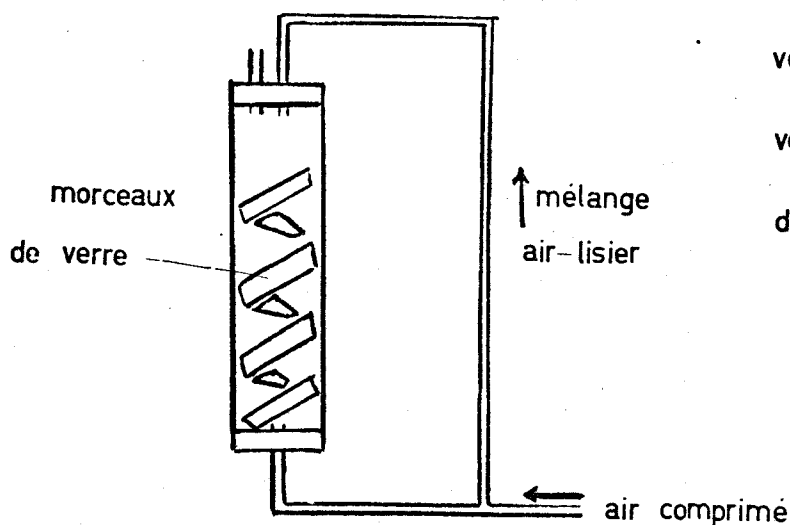
	to	to + 3 jours	to + 3 jours
		Sous Air	Sous Azote
flore aérobie mésophile	9,94	11,69	11,01
flore anaérobie totale	9,00	5,00	7,00
Spores de Clostridium H ₂ S+	3,27	3,17	2,83
Levures	4,00	1,00	2,00

TABLEAU 30 : Comparaison des variations de population bactérienne dans du lisier (1l) sous air ou sous azote.

Dans les 2 cas nous constatons une augmentation de la flore aérobie ce qui fait penser que c'est l'agitation provoquée dans le milieu qui est favorable ou bien que la population de bact. aérobies anaérobies facultatives dénombrée parmi la flore totale se multiplie plus rapidement. Nous remarquons également que la population de germes anaérobies est plus affectée par l'envoi d'air que par l'envoi d'azote.

b) aération sur colonne

Nous avons réalisé le montage suivant (schéma 1)



volume de la colonne : 2 l

volume de lisier : 1 l

débit : 9,5 l / h

L'aération du lisier se fait à la fois lors de la période d'entraînement par l'air comprimé et lors du ruissellement sur les morceaux de verre. Le volume de lisier dans la colonne est recyclé 7 fois par heure. Dans ce système l'évolution des microflore est la suivante :

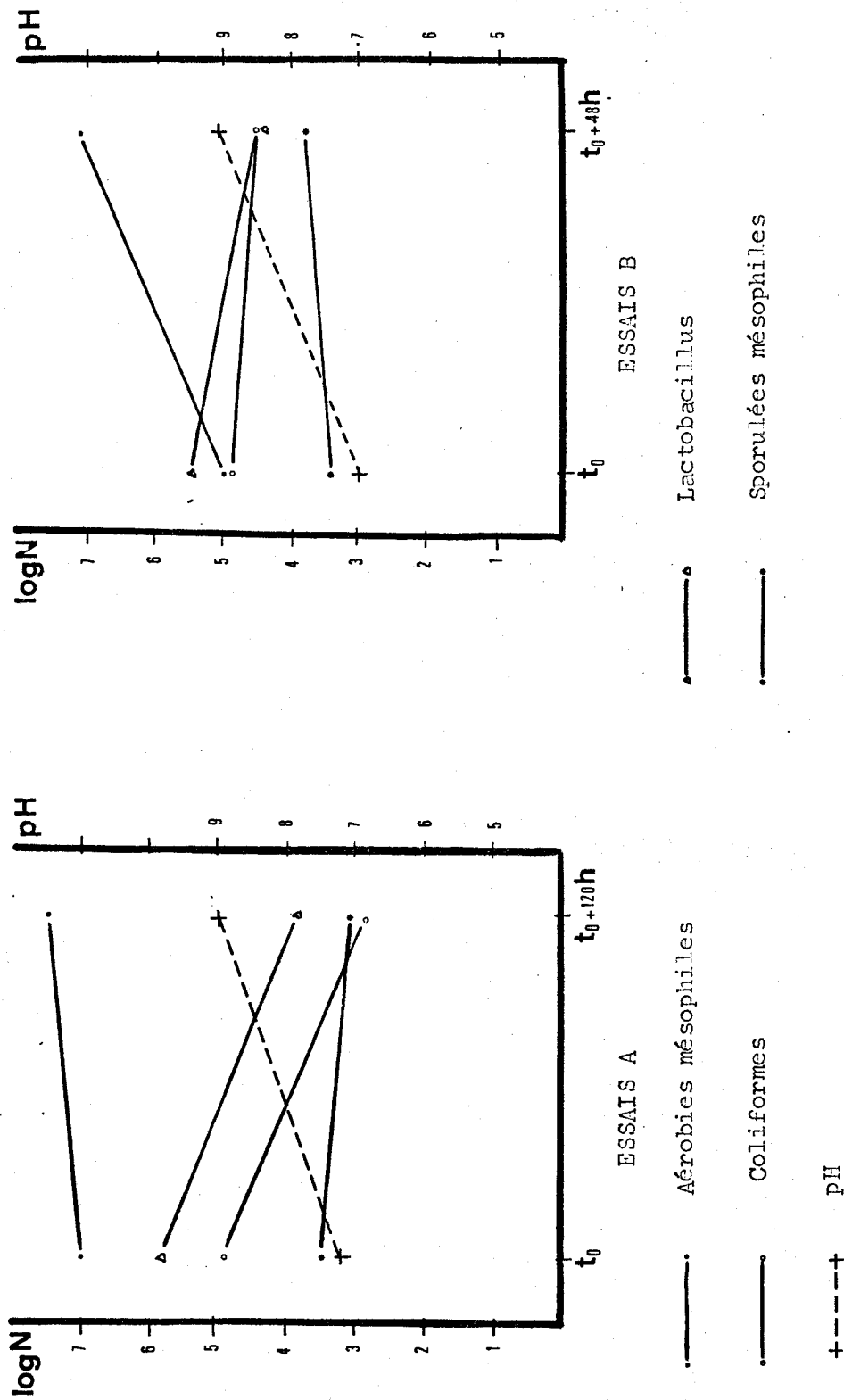


figure 9 : Evolution du nombre de bactéries dans une colonne aérée au cours de 2 essais A et B de durée différente.



Nous notons que 48 heures d'aération (essai B) suffisent pour que l'on ait une diminution des Lactobacilles, des Coliformes, ceci peut s'expliquer par l'augmentation du pH non favorable à la croissance de ces germes. La population aérobie totale croît beaucoup plus rapidement dans l'essai B que dans l'essai A, nous pensons qu'il y a épuisement du milieu dans l'essai A.

Nous avons étudié plus précisément les variations de la microflore aérobie totale au cours d'un traitement d'aération sur colonne. Nous notons tout d'abord qu'en 48 heures la population totale est multipliée par 1000 ; au temps t_0 c'est à dire dans le lisier frais la population est constituée de 50 % de Micrococci, 30 % de Streptocoques du groupe D, 15 % de Lactobacillus, les 5 % restants sont constitués par des Coliformes, des Pseudomonas et des Bacillus après 48 heures d'aération nous trouvons les pourcentages suivants : 70 % de Micrococci, 20 % de Pseudomonas, 15 % de Streptocoques fécaux et moins de 5 % de Lactobacillus. Il y a donc une forte augmentation du nombre de germes aérobies : Micrococci et Pseudomonas et une diminution des germes à tendance Anaérobie : les Lactobacillus. La modification de microflore est très nette et elle est accompagnée par une disparition des odeurs nauséabondes.

Nous avons suivi au cours de l'essai B précédent l'évolution de la composition chimique du lisier au cours de ce traitement, les résultats figurent dans le tableau 31.

	to	to + 17 h.	to + 24 h.	to + 41 h.
N total	0,28 %	0,19 %	0,18 %	0,14 %
N aminé	0,27 %	0,17 %	0,25 %	0,12 %
Protéines solubles	0,07 %	0,08 %	0,06%	0,06%
Sucres	0,061%	0,078%	0,065%	0,080%

TABLEAU 31 : Evolution de la composition chimique d'un lisier au cours d'un traitement par aération sur colonne.

Nous constatons une diminution du taux d'azote total au cours de ces 41 heures, par contre la concentration en sucres solubles ne varie pas il faut donc penser que les protéines servent à la fois de source de carbone et de source d'azote pour la croissance des microorganismes.

Nous avons effectué une expérience analogue mais en traitant 100 l de lisier. Celui-ci est stocké dans un réservoir situé sous la colonne ; le lisier est amené en haut d'une colonne remplie de tournure d'inox à l'aide d'une pompe (débit 720 l/h.) Les résultats bactériologiques enregistrés sont semblables à ceux trouvés précédemment c'est à dire que nous assistons à une multiplication de la flore aérobie et en particulier des Micrococci Les résultats des analyses chimiques ont été regroupés dans le tableau 32.

	10	t ₀ + 17 h	t ₀ + 24 h	t ₀ + 41 h	t ₀ + 48 h
couleur.....	verte	brune	brune	brune	brune
PH.....	7,3	8,3	8,5	8,7	8,8
N total.....	0,61 %	0,56 %	0,23 %	0,22 %	0,16 %
N ammoniacal....	0,28 %	0,30 %	0,33 %	0,31 %	0,26 %
N aminé.....	0,19 %	0,18 %	0,19 %	0,19 %	0,14 %
C organique.....	0,20 %	0,19 %	0,21 %	0,34 %	0,38 %

TABLEAU 32 : Evolution de la composition chimique du lisier après aération sur colonne.

Du point de vue des odeurs nous avons constaté qu'il y avait des modifications très sensibles dès les premières heures : il y a une disparition de l'odeur d'H₂S et une accentuation des odeurs ammoniacales après 48 heures les odeurs sont fortement réduites.

c) Aération industrielle des lisiers.

Nous avons suivi l'évolution de la composition chimique et de la composition bactériologique d'un lisier soumis à une oxydation en bassin après traitement préalable à savoir décantation par le système PAL-SAFITE. Le séparateur du lisier PAL-SAFITE est un appareil qui permet de séparer la phase solide de la phase liquide du lisier ; après ce traitement la phase liquide est oxygénée

1 - Analyse chimique

Une analyse chimique a été effectuée sur du lisier frais puis sur du lisier tamisé et oxydé les résultats communiqués par les Etablissements Lecieux et Cie (Annoeulin) sont les suivants :

	DCO	DBO	N.E.S.	NH ⁴⁺	N ₂ TOTAL	PO	M.S.	PH
	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	%	
Lisier frais (A)	93345	24900	94588	4464	5600	546	8	6,80
Lisier oxydé	17438	4840	4168	2916	2960	353	2	7,65
Lisier oxydé durant 8 jours	12890	3370	5225	6115	3200	223	2	

TABLEAU 33 : Comparaison de la composition chimique de lisier frais et de lisier oxydé

N.E.S. : matières en suspension

M.S. : matières sèches.

Remarquons qu'après tamisage par le système PAL-SAFITE le phosphore et le calcium se concentrent dans les sédiments en même temps que la matière carbonée (diminution de DCO).



L'azote ammoniacal le K_2O et Na_2O restent dans les liquides (tableau 34).

	DCO mg/l	DBO mg/l	M.E.S. g/l	M.S. %	N total %	NH_3 %	P_2O_5 %	Na_2O %
Lisier brut.....	35 000	100 000	110	11,7	0,76	0,60	0,40	0,09
Lisier tamisé.....	27 000	70 000	55	5,7	0,46	0,50	0,50	0,08
Sédiment.....					0,86	0,50	0,80	0,05

TABLEAU 34 : Comparaison de la composition chimique de lisier brut et de lisier décanté (système PAL-SAFITE)



2 Analyse bactériologique

	A	B	C	D	E
Aérobies mésophiles	6,98	7,08	6,36	7,65	7,80
Sporulées mésophiles	4,60	4,86	4,76	5,59	6,39
Coliformes	4,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Lactobacillus	6,65	6,69	5,91	7,17	7,01
Streptocoques D	4,00	4,00	3,00	2,00	2,00
Spores Clost. H ₂ S+	2,17	1,95	1,60	3,90	4,36
Anaérobies	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Bactéries sulfato-Réductrices.	1,95		2,65		

A Lisier frais

D phase solide jeune

B Lisier (phase liquide) décanté

E phase solide vieille

C Lisier (phase liquide) oxydé

TABLEAU 35 : Composition bactériologique des différentes phases au cours d'un traitement par le procédé PAL-SAFITE

L'oxydation de la phase liquide (échantillons B et C) entraîne peu de modification, nous constatons cependant une diminution légère des bactéries à tendance anaérobie comme Lactobacillus, Streptocoque D. Il se peut que ce soit un changement au niveau des espèces qui se produise, il est en effet certain que la microflore joue un rôle au niveau de l'épuration.

La phase solide constituée par les déchets insolubles a une évolution propre, nous constatons une diminution des Streptocoques du groupe D, la flore aérobie mésophile augmente ainsi que les formes sporulées.

Nous constatons que l'aération sur grande échelle de la phase liquide n'amène pas de modification plus importante que celle constatée au laboratoire.

Gousse(34) au cours d'une étude de deux procédés d'épuration des lisiers par boues activées a recherché les espèces dominantes ; il a trouvé cinq germes principaux dans les lisiers en cours d'épuration : Micrococcus, Pediococcus, Bacillus Brevis, Arthrobacter et Achromobacter.

Il montre que l'on retrouve toujours ces espèces dans les lisiers décantés ou non mais avec une fréquence différente.

3 Analyse des Odeurs

Elles sont plus difficiles à réaliser qu'en laboratoire parce qu'interviennent les conditions atmosphériques. On peut cependant attribuer une note aux odeurs qui se dégagent des bassins d'oxydation ou réaliser des prélèvements d'échantillon et effectuer les analyses sur ces échantillons.

Lorsque l'aération est forte, nous pouvons dire que les mauvaises odeurs sont fortement réduites voire inexistantes.

B. 4. Action d'enzymes diverses

Cette étude succincte de 4 enzymes protéolytiques sur le lisier est suivie par les variations de la population aérobie mésophile totale. Après 8 jours d'action à 30 ° C il y a une multiplication de cette microflore.

	LISIER		PAILLER	
	to	to+ 8j	to	to + 8j
PROTEASE B (Rapidase).....	7,61	9,30	7,95	9,3
Maxatase 300 000 D.U./g. (Ets Arnaud).....	7,61	9,20	7,95	9,00
Papaïne Codex (IBF).....	7,61	9,36	7,95	9,3
Fradiase (Sté Oril).....	7,61	9,25	7,95	9,07
Témoin.....	7,61	8,84	7,95	9,30

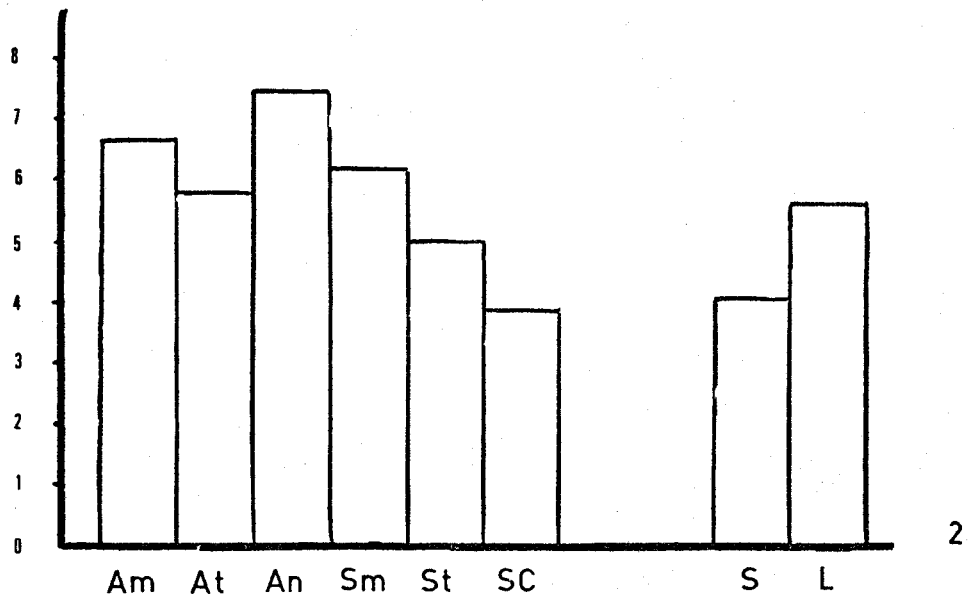
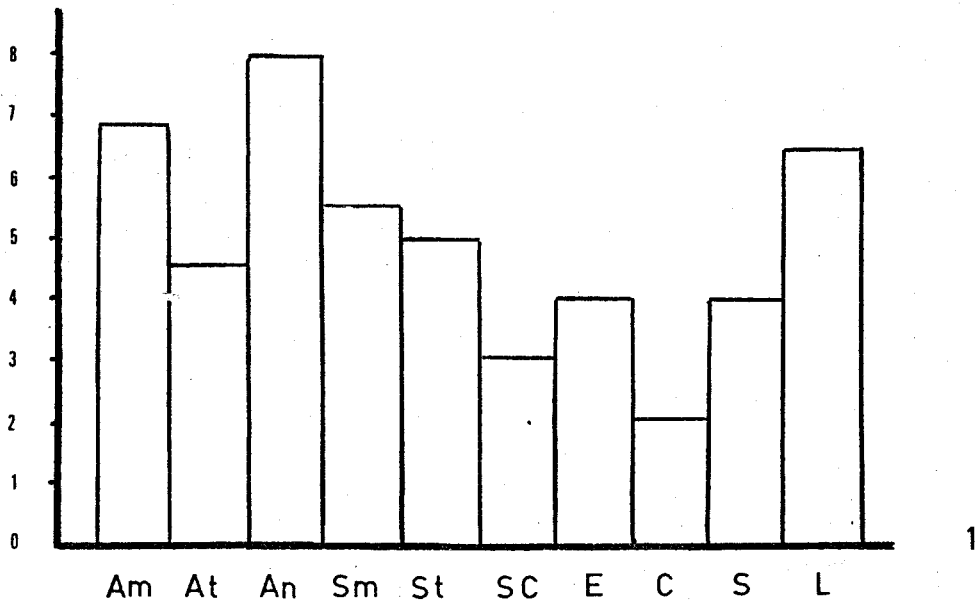
TABLEAU 36 : Actions d'enzymes protéolytiques (1mg d'enzymes/ml d'une dilution de lisier au 1/10).
Résultats exprimés en log du Nombre de germes/ml.

Nous avons noté une modification de la couleur des lisiers qui est devenue beaucoup plus brune ; la population bactérienne augmente mais cette augmentation est également notée dans le témoin.

L'action de ces enzymes sur les odeurs est totalement nulle. Notons cependant qu'un produit commercial composé par des extraits enzymatiques d'*Aspergillus flavus orizae* seraient actifs sur les odeurs des lisiers par blocage des formations d'acides gras courts, de l'indol, du scatol et de H₂S.

B. 5. Action des Oxydants

Il existe un brevet américain (80) de traitement des odeurs de lisier par l'eau oxygénée. Nous avons utilisé pour notre part l'hypochlorite de sodium. Il nous a semblé indispensable d'étudier l'action de ce produit sur la microflore des lisiers, la dose de NaOCl utilisée est de 1 % et nous donnons dans le tableau 37 les résultats enregistrés après un mois d'action.



A.m. : Aérobie mésophile

A.t. : Aérobie thermophile

An : Anaérobie

S.m. : Sporulée mésophile

S.t. : Sporulée thermophile

S.C. : Spores Clostridium H₂S+

E : Entérobactéries

C : Coliformes

S : Streptocoques D

L : Lactobacillus

ACTION DE L'EAU DE JAVEL SUR LA MICROFLORE DU LISIER



TABEAU 37 : 1 Composition de la microflore à t = 0

2 Composition de la microflore à t = 1 mois

Nous ne mettons pas en évidence de modification de la microflore, les seules modifications observées sont dues au stockage, en effet la composition du lisier témoin après un mois est identique à celle du lot expérimental.

Les analyses sensorielles effectuées après traitement à l'eau de javel donne les résultats suivants :

		Note moyenne/10
Intensité	Témoin non stérilisé	4,8
	Témoin stérilisé	4,8
	Lisier + NaOCL	3
Acceptabilité	Témoin non stérilisé	4,5
	Témoin stérilisé	4,5
	Lisier + NaOCL	3

TABLEAU 38 : Analyse sensorielle après traitement du lisier à l'eau de javel

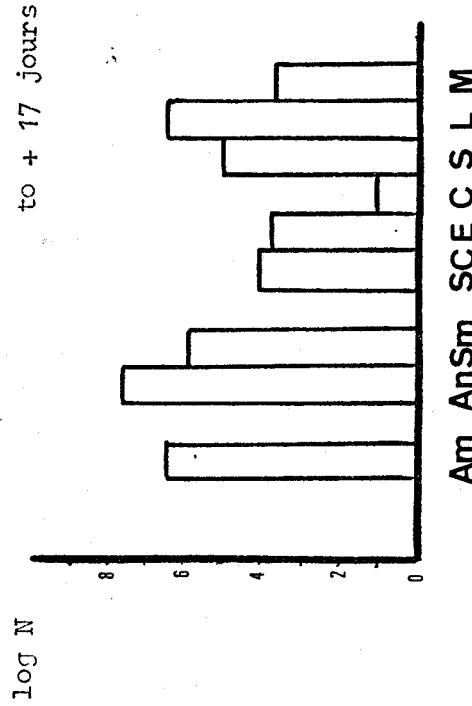
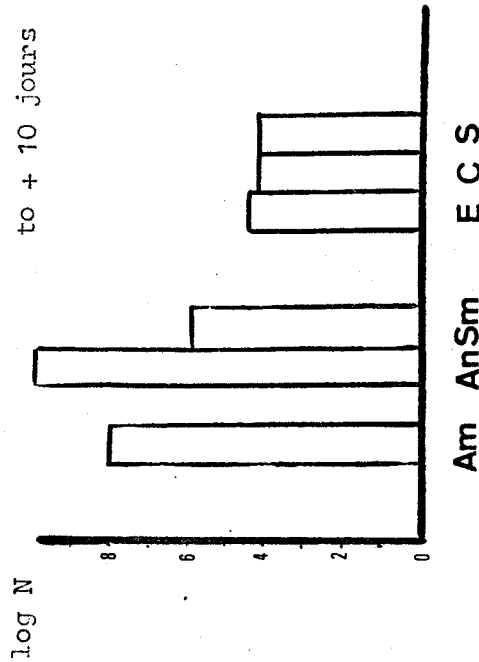
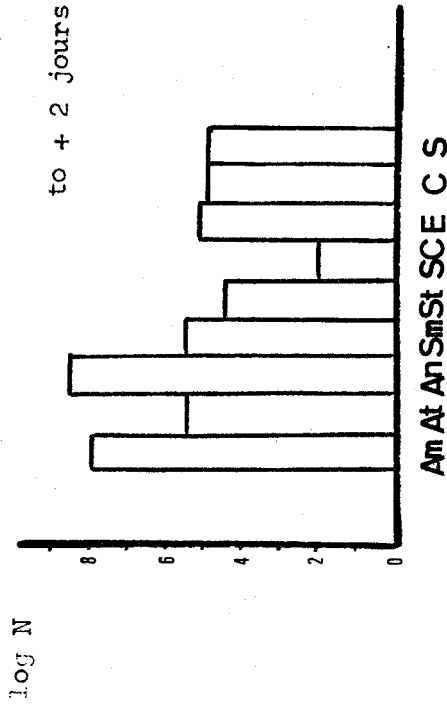
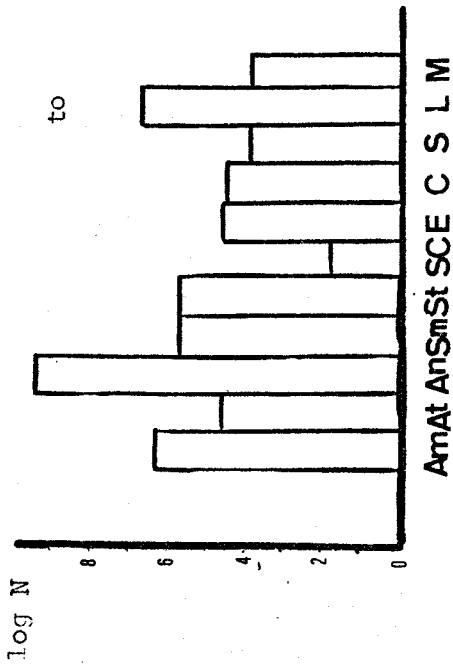
Le traitement est fort efficace, l'absence d'odeur se manifeste encore après 1 mois.

B. 6. Addition d'une source d'azote

Par addition d'une source d'azote nous espérons provoquer une modification des métabolismes existants. L'addition d'une source d'azote va généralement se manifester par une augmentation de pH.

Nous avons ajouté au lisier du carbonate d'ammonium (1 %) le pH passe de 7,1 à 8,5. Les résultats des analyses des microflores sont regroupés dans le tableau 39. Après 17 jours les coliformes ont presque disparu mais le reste de la flore est stable ; de toute façon si le carbonate d'ammonium était utilisé par certains microorganismes nous pensons que l'effet se manifesterait dès le 2e jour.

Une expérience avec addition de sulfate d'ammonium donne des résultats analogues sur la microflore.



Am : Aérobie mésophile St : Sporulées thermophiles C : Coliformes
 At : Aérobie thermophile Sc : Spores de Clostridium S : Streptocoques
 An : Anaérobies sulfite réducteurs L : Levures
 Sm Sporulées mésophiles E : Entérobactéries M : Moisissures

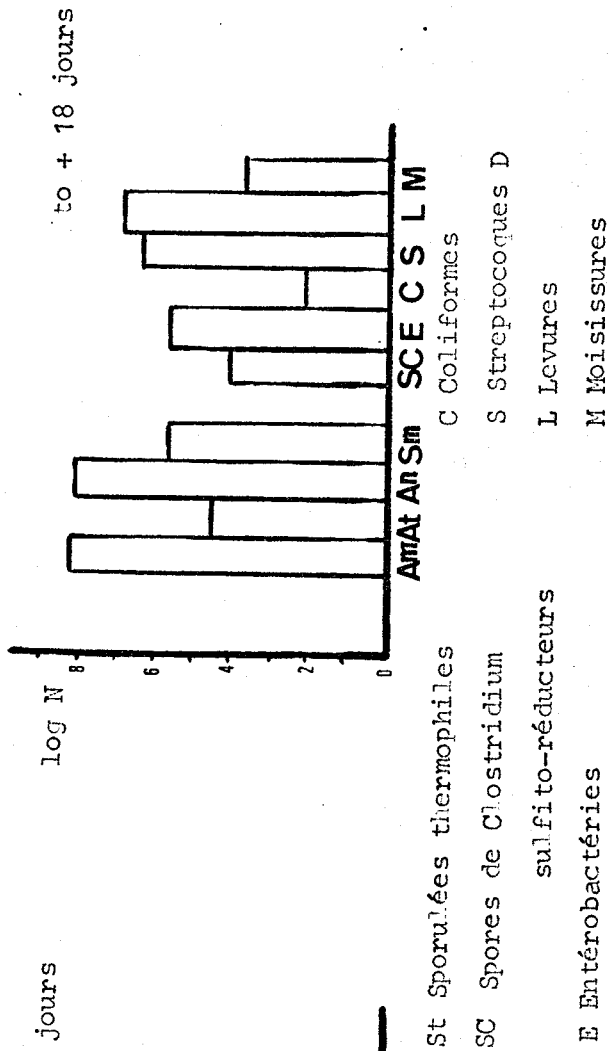
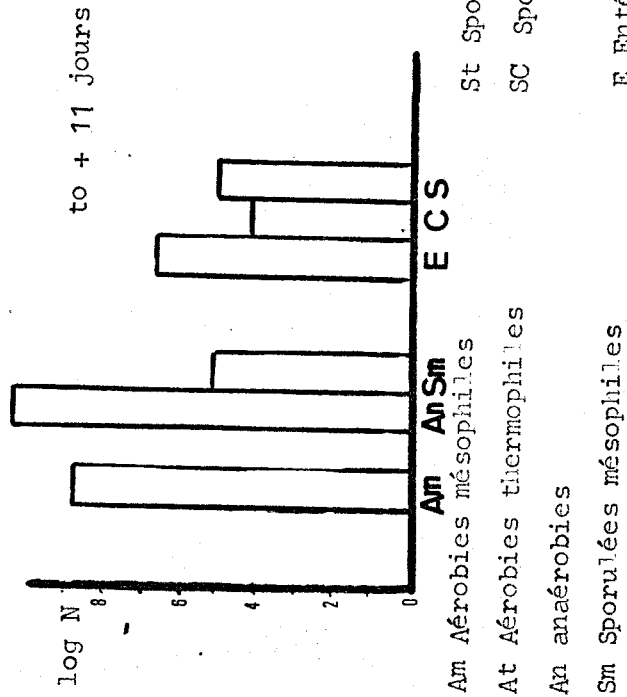
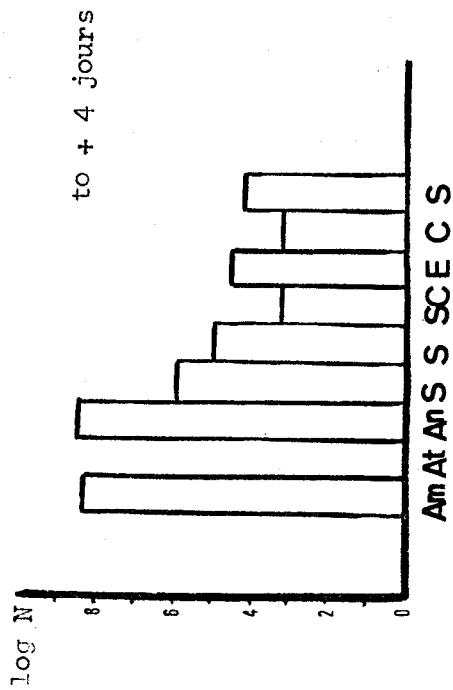
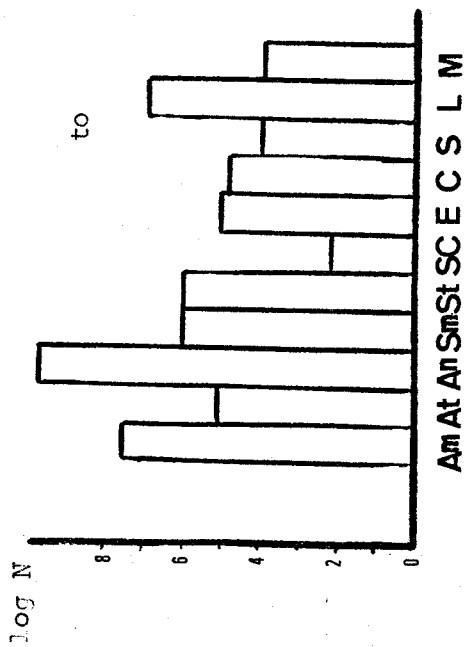
TABLEAU 39 : INFLUENCE SUR LA MICROFLORE DU LISIER DE L'ADDITION D'UNE SOURCE D'AZOTE



B. 7. Addition d'une source de Carbone

Dans un premier temps, nous avons choisi d'ajouter du glucose à la dose de 1 % ; le choix de ce substrat a été fait non pas dans un but d'application si les résultats s'avéraient positifs mais parce qu'il s'agit d'une source de carbone facilement métabolisable par de nombreux microorganismes. Les résultats de cet essai sont regroupés dans le tableau 40 .

Après 4 jours il n'y a pas de multiplication cellulaire importante le nombre des Coliformes, germes fermentant le glucose, n'est absolument pas modifié. Il est possible que la concentration en sucre soit insuffisante nous avons alors ajouté le glucose à la dose de 7 % les résultats sont donnés dans le tableau 41.



TABEAU 40 : INFLUENCE SUR LA MICROFLORE DU LISIER DE L'ADDITION D'UNE SOURCE DE CARBONE



	LOT TEMOIN				LOT EXPERIMENTAL			
	to	to + 2 j	to + 10 j	to + 12 j	to	to + 2 j	to + 10 j	to + 12 j
Aérobies mésophi- les.....	7,07	7,61	6,93	6,70	8,45	5,86	5,03	
Sporulées mésophi- les.....	7,23		4,98			4,25		
Coliformes.....	6,00	4,00	4,00	3,00	3,00	1,00	1,00	
Lactobacillus.....	6,43	6,80	6,76	5,75	8,60	8,57	7,15	
Anaérobies.....	10,51	10,28	9,73	8,24	10,30	9,60	9,81	

TABLEAU 41 : Evolution de la microflore après addition de glucose (7%)



Dans ce cas nous constatons une multiplication de la flore bactérienne totale durant les 2 jours qui suivent l'addition du sucre, nous remarquons qu'il y a une augmentation très importante des Lactobacillus mais que la population de Coliformes diminue, l'étude des variations de pH montre qu'après 10 jours celui-ci est de 4,6 dans le flacon expérimental ce qui peut expliquer la disparition de certaines espèces bactériennes.

D'autres essais avec addition de lactose puis de lactosérum ont été réalisés mais il n'y a pas de modification de la microflore existante. Le pH diminuant au cours du temps, le sucre est vraisemblablement utilisé mais la dose est peut-être trop faible pour que l'effet soit visible ; il ne paraît pas intéressant de continuer dans cette voie car l'addition de sucre serait telle que le rôle du lisier dans ces cas se bornerait à être le diluant.

C. Essais de production de biomasse

Des essais de production de cellules à partir de fumier de porc ou de lisier additionné d'un substrat carboné sont actuellement en cours Lai et coll. (42), Zojtsev et coll. (79), Wilson M et coll. (77).

Nous avons réalisé des essais de production avec différents germes.

C. 1. Clostridium tyrobutyricum

Au cours d'analyses sensorielles nous avons remarqué que le développement de ce germe dans du lisier n'était jamais accompagné par le dégagement d'odeurs nauséabondes.

Des essais réalisés à pH neutre ou légèrement acide d'ensemencement de lisier additionné de chlorhydrate de cystéine (0,3‰) pour réduire le milieu avec Clostridium tyrobutyricum se sont toujours révélés négatifs.

Nous avons remarqué qu'un inoculum important était indispensable pour avoir un démarrage d'une culture, qu'un pH alcalin 7,8-8 était favorable ; dans ces conditions il y a une légère croissance à partir du 5ème jour et durant 24-48 heures ensuite la population de Clostridium diminue.

Une analyse sensorielle effectuée après 6 jours puis 10 jours de culture montre que l'odeur est pratiquement nulle durant les 6 premiers jours mais qu'elle est comparable à celle du témoin après 10 jours.

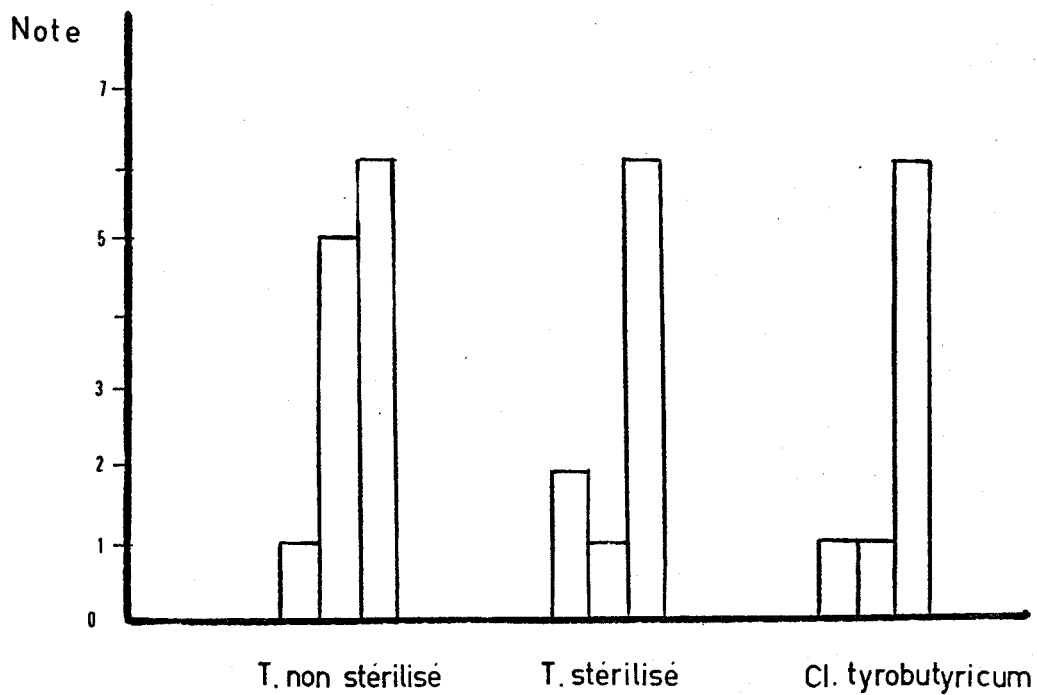


figure 10 : Analyse sensorielle après réensemencement du lisier avec CL. tyrobutyricum pH 7 culture à 20 ° C



C. 2. Les streptocoques du groupe D.

La population des Streptocoques fécaux dans les lisiers est assez stable nous avons essayé de favoriser la croissance de ces microorganismes. Lorsqu'au départ il y a moins de 10^4 cellules par ml la population diminue en une dizaine de jours ; nous avons alors choisi comme concentration en cellules au départ 10^6 cellules/ml et nous avons ensemencé des lisiers plus ou moins dilués avec de l'eau nous obtenons les résultats de la figure 11 à savoir une stabilisation de cette microflore durant 3 à 4 jours pour arriver finalement à 10^4 ou 10^3 germes/ml, dans aucun cas il n'y a une disparition totale de ces germes.

Notons qu'après des cultures de Streptocoques fécaux les odeurs dans les lisiers sont toujours identiques au témoin.

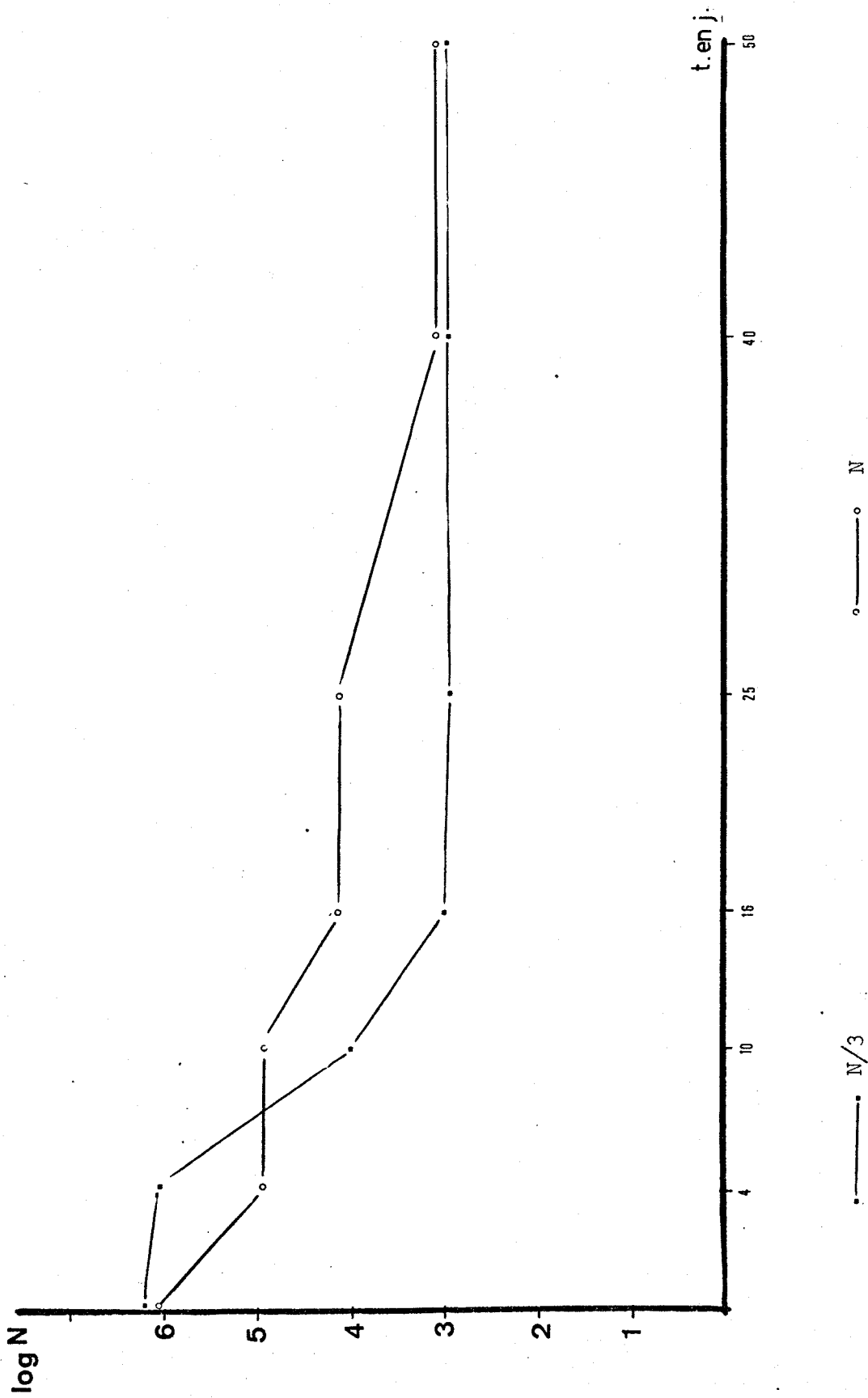


figure 11 : ESSAIS D'IMPLANTATION DE STREPTOCOCCUS faecalis dans du lisier brut ou dilué (pH 6,5-7)

C. 3. Les Lactobacillus

a) Production de biomasse

Les Lactobacillus germes acidophiles étant nombreux dans les lisiers nous avons recherché si des germes étaient capables de se multiplier dans du lisier à pH neutre ou acide.

Nous avons tout d'abord ensemencé abondamment des lisiers ajustés à différents pH : 5,3 . 6 et 7,05 avec différents Lactobacillus isolés du lisier les résultats sont donnés dans le graphique suivant.

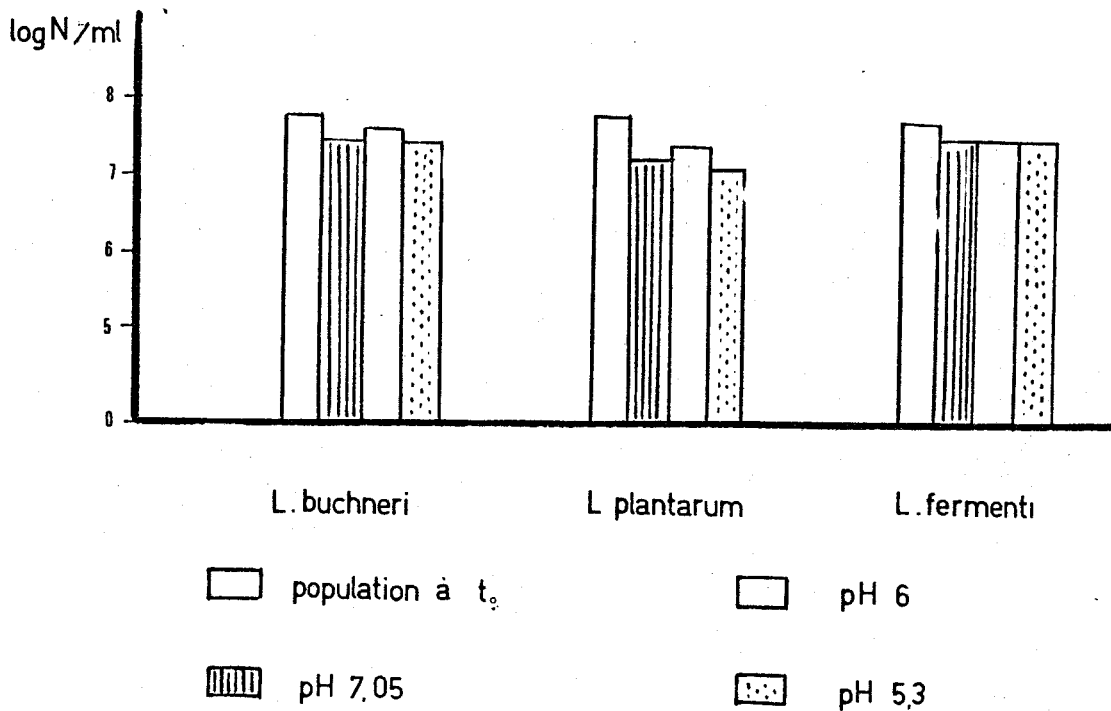


figure 12 : Croissance de 3 lactobacillus dans le lisier à différents pH

Les dénombrements sont réalisés après 3 jours, nous constatons que la population qui est très forte au départ (population normale du lisier + préculture) est très stable durant ces 3 jours mais il n'y a pas de développement à un pH préférentiel.

Nous avons alors ensemencé L. plantarum dans du lisier stérilisé à pH 7 et 5,5. A t₀ il y a $83 \cdot 10^6$ L. plantarum par millilitre, à pH 7 après 2 jours il ne reste que 10^4 cellules par ml et après 13 jours L. plantarum a totalement disparu ; à pH 5,5 la disparition est moins brutale après 2 jours il y a encore $41 \cdot 10^5$ cellules par ml et après 13 jours $7 \cdot 10^3$ cellules/ml.

Il semble donc que les Lactobacillus ne puissent pas se multiplier dans le lisier brut. L'addition d'une source de carbone peut modifier la composition de la population de Lactobacillus (cf plus haut) mais nous avons remarqué que le pH au départ doit être acide en effet à pH 7 il y a disparition de la microflore après 13 jours même si l'on ajoute du lactose. A pH 5,5 dans du lisier additionné de lactose la population se renouvelle mais ne se multiplie pas (même nombre de cellules/ml après 13 jours).

Des essais réalisés avec L. acidophilus dans un lisier à pH 5 au départ montre qu'il y a croissance de ce microorganisme durant 12 jours ce qui correspond au temps pendant lequel le pH est inférieur à 6 (figure 13). La courbe témoin est décroissante pendant tout le temps de l'expérience. Il apparaît donc intéressant d'étudier le comportement de ces germes dans du lisier tamponné à pH acide. Nous avons choisi de suivre l'évolution de L. buchneri dans du lisier tamponné à pH 5,5. Les résultats sont regroupés sur la figure 14. Nous notons une très nette augmentation durant les 4 premiers jours puisque la population passe de 10^6 germes/ml à 10^9 germes/ml ensuite cette population dense se maintient jusqu'au 12^e jour puis décroît.

Nous avons également testé l'implantation de L. buchneri dans du lisier plus ou moins dilué à pH 6,5-7. Nous constatons sur la figure 15 que la diminution du nombre de Lactobacillus est lente et progressive puisque l'on passe de 10^8 germes/ml à 10^5 germes/ml en 50 jours dans du lisier brut, nous remarquons également que dans le lisier dilué au $1/10$ la population disparaît totalement après 50 jours alors qu'elle est encore voisine de 10^4 cellules/ml au 40^e jour.

Ces études avec les Lactobacillus montrent que ces germes sont fort bien adaptés au lisier et qu'une modification du pH peut entraîner une multiplication plus ou moins forte de leur population.

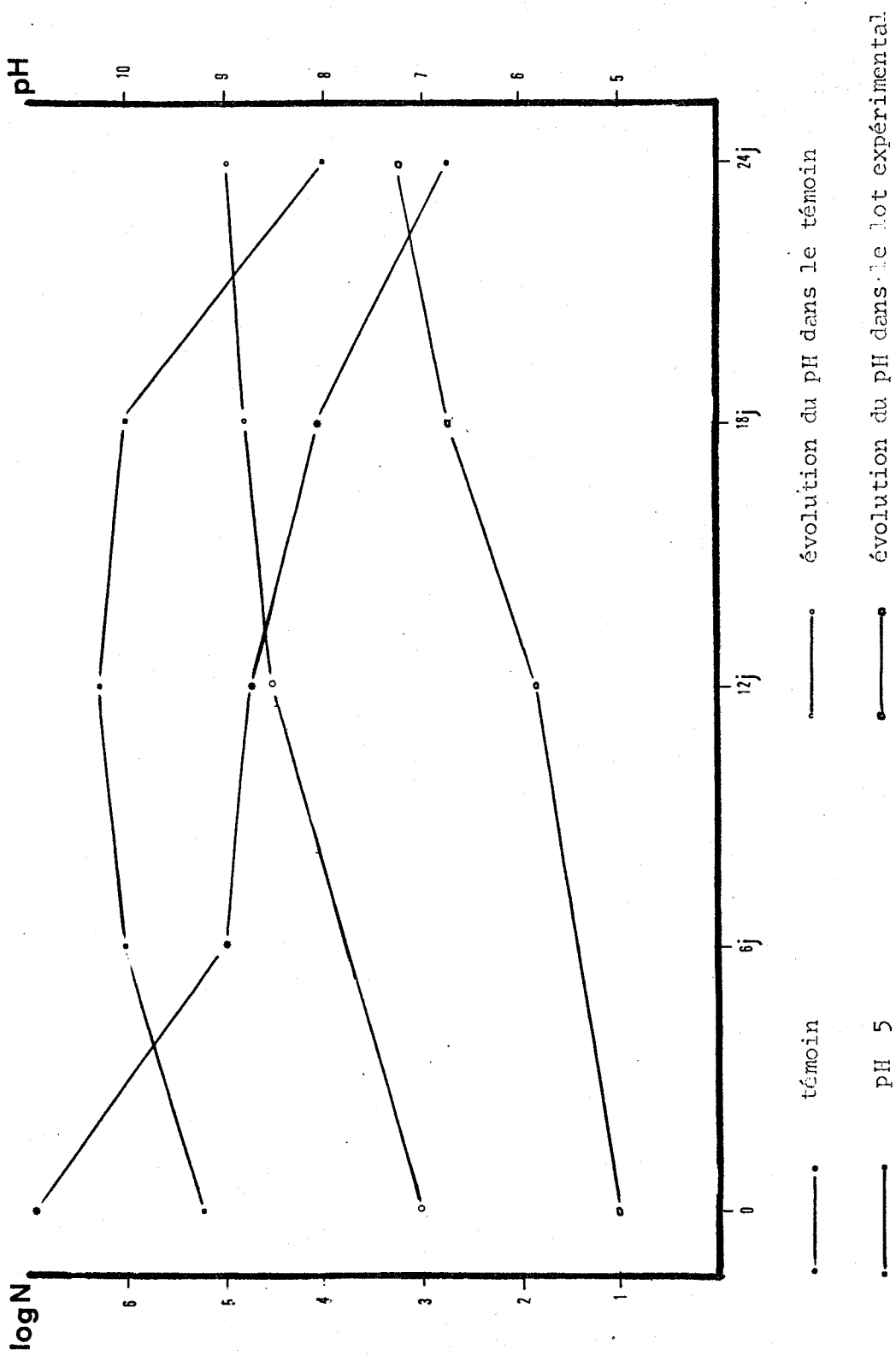


figure 13 : EVOLUTION DE LACTOBACILLUS acidophilus DANS UN LISIER A PH 5 AU DEPART.



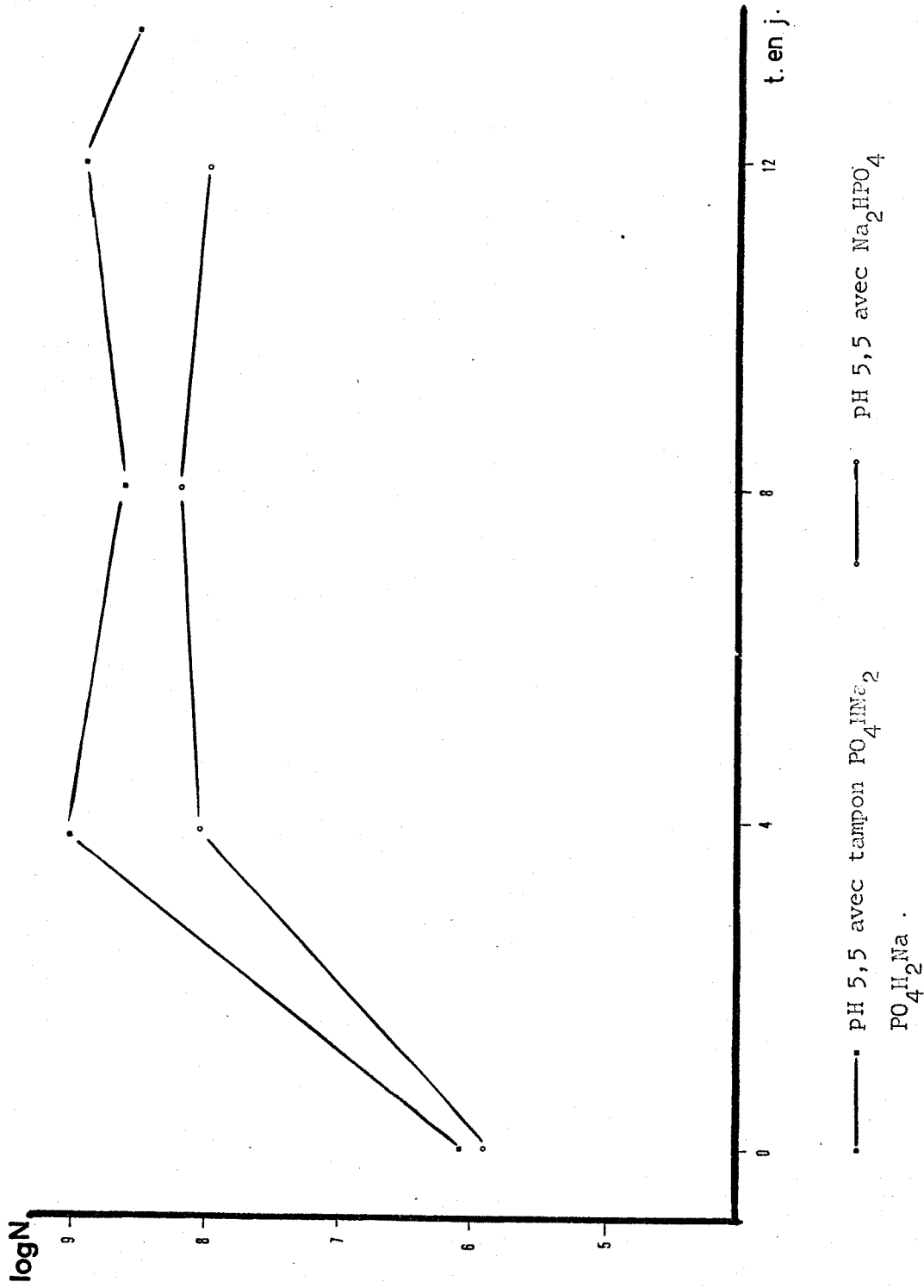


figure 14 : EVOLUTION DE LACTOBACILLUS buchneri DANS DU LISIER TAMPONNE A PH 5,5



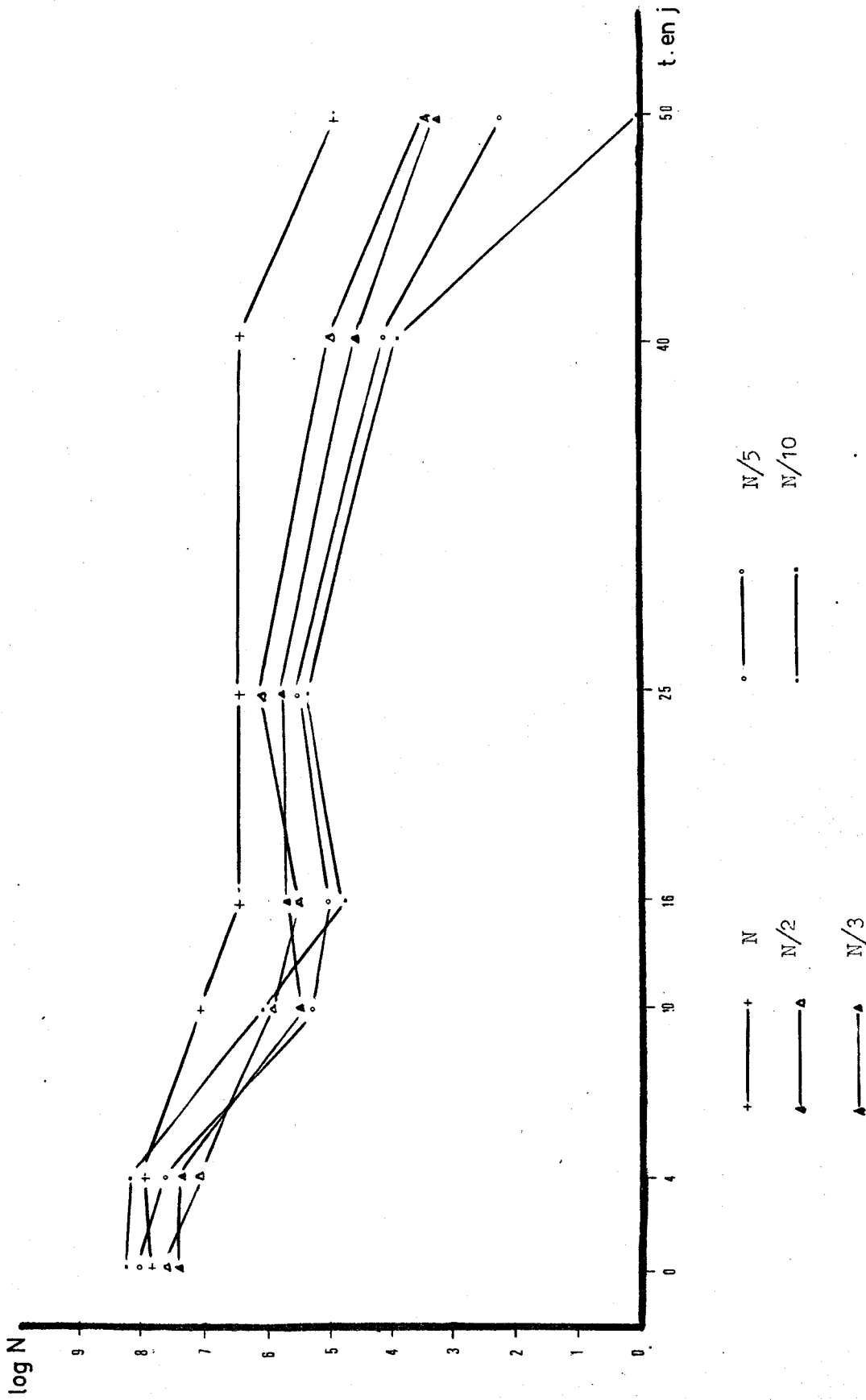


Figure 15 : ESSAIS D'IMPLANTATION DE LACTOBACILLUS buchneri dans du lisier brut ou dilué (pH 6,5-7)



b) analyses sensorielles

Les tests olfactifs ont été effectués systématiquement après chaque essai. Ainsi nous avons pu comparer les odeurs produites par L. buchneri, L. plantarum et L. fermenti ensemencés dans des lisiers à pH 6 et 5,3 après 8 jours de culture.

Lot à pH 6		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Note	
		:												
Témoin		:	_____											
		:												
L. buchneri		:	_____											
		:												
L. plantarum		:	_____											
		:												
L. fermenti		:	_____											
		:												
		:												
Lot à pH 5,3		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Note	
		:												
Témoin		:	_____											
		:												
L. buchneri		:	_____											
		:												
L. plantarum		:	_____											
		:												
L. fermenti		:	_____											
		:												
		:												

figure 16 : Analyse sensorielle après réensemencement du lisier avec 3 espèces de Lactobacillus

Nous remarquons que la diminution d'odeur est associée avec un pH acide ; signalons cependant que la croissance des Lactobacillus ne s'effectue pas toujours favorablement même à pH acide alors qu'il semble que l'odeur ait diminué.

Nous avons suivi l'évolution des odeurs dans des lisiers réensemencés avec L. acidophilus et ajustés à différents pH : 7 (pH normal) 6, 5,5, et 5. Après 72 heures une analyse sensorielle révèle que tous les échantillons possèdent une forte odeur d' H_2S .

Dans une autre série d'expérience avec L. acidophilus ensemencé dans des lisiers à pH 7, 6 et 5,4 nous obtenons les résultats suivants :

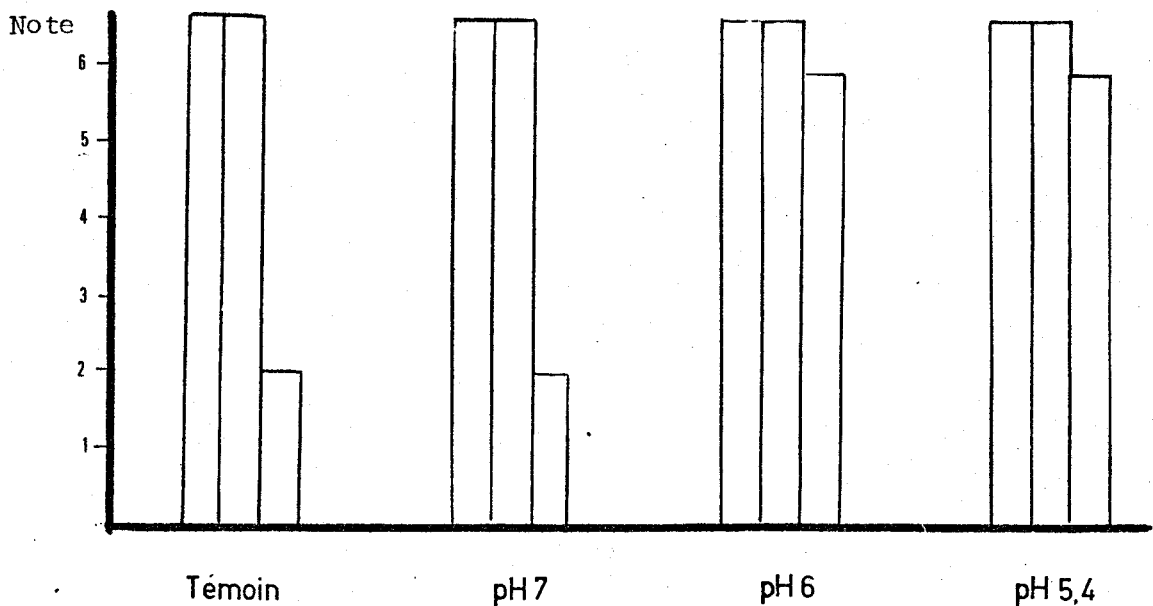


figure 17 : Analyses sensorielles effectuées tous les 6 jours sur du lisier ensemencé avec L. acidophilus

Il semble dans ce cas qu'il n'y ait pas modification des odeurs, mais il faut remarquer que ces figures traduisent l'intensité de l'odeur, elles ne représentent pas les caractéristiques de l'odeur, en effet une odeur d' H_2S persiste durant tout le temps de l'expérience chez le témoin, alors que cette odeur est totalement absente dans les lots expérimentaux.

Le développement des Lactobacillus dans le lisier ne semble pas accompagné par le dégagement de mauvaises odeurs mais il est délicat de distinguer la part du pH et la part des micro-organismes dans cette diminution d'odeur.

C. 4. Levures et Moisissures.

a) Sélection

Elle est effectuée à partir des souches de levures et des moisissures du laboratoire. Nous avons ensemencé les souches dans du lisier et nous avons suivi leur croissance après 2 jours puis après 5 jours. Nous avons ainsi sélectionné Torulopsis formata, Candida utilis C. krusei, Saccharomyces cerevisiac var. ellipsoïsus, Endomyces fibuliger et Oidium lactis.

b) Croissance en présence de Lactosérum

Le lisier étant déficitaire en sucre nous avons choisi de le compléter avec du lactosérum autre déchet de l'industrie.

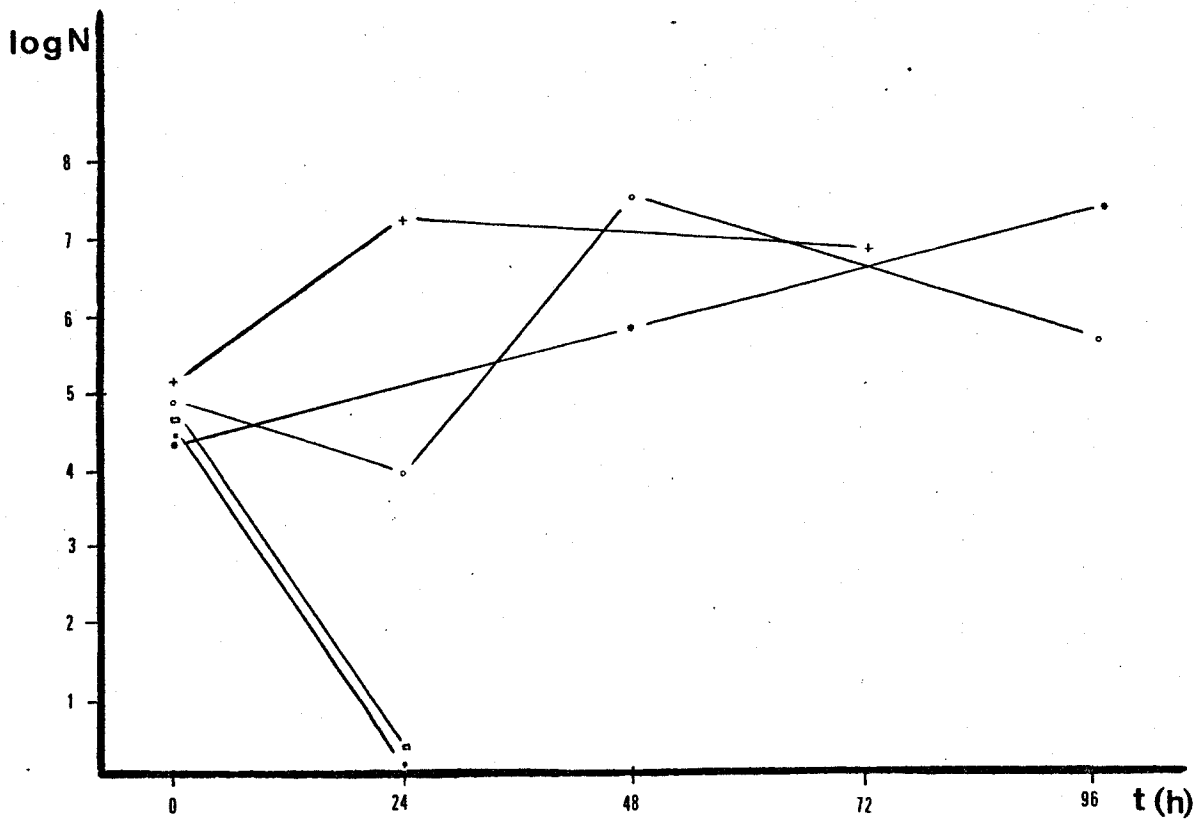
Nous avons sélectionné les souches pouvant cultiver sur le mélange lisier + Lactosérum(20/10) ; les dénombrements sont effectués après 48 puis 96 heures. Sur 10 souches testées seuls Candida krusei, Candida Utilis et Oïdium lactis survivent.

Dans le tableau 42 figurent les résultats de la croissance de ces microorganismes en fonction du rapport lisier-Lactosérum.

	Essais:	to	to + 48 h	to + 96 h
Oïdium Lactis	1	4,88	0	0
	2	4,86	7,17	7,74
	3	5,04	5,81	6,75
	4	5,16	0	0
Candida krusei	1	5,56	0	0
	2	5,54	7,00	8,57
Candida utilis	1	5,27	0	0
	2	5,50	7,00	8,89

1. 10 ml Lactosérum + 20 ml lisier
2. 20 ml Lactosérum + 10 ml lisier
3. 15 ml Lactosérum + 15 ml lisier
4. 15 ml lisier + 5 ml Lactosérum puis addition chaque jour de 5 ml Lactosérum.

TABLEAU 42 : Croissance de levures en fonction du rapport lisier-lactosérum
Résultats exprimés en logarithme du nombre/ml.



- + ———+ culture sur 30 ml de lactosérum
- ———• culture sur 20 ml LS + 10 ml lisier
- ———◦ culture sur 15 ml LS + 15 ml lisier
- ◌ ———◌ culture sur 10 ml LS + 20 ml lisier
- ◑ ———◑ culture sur 30 ml lisier

figure 18 : Croissance de Oidium lactis dans différents mélanges lisier-lactosérum.



Nous constatons que ces microorganismes préfèrent les lisiers additionnés de 2 volumes de lactosérum pour croître

Une étude plus précise a été faite avec Oidium lactis.

En réalité nous avons obtenu le maintien dans certains cas d'Oidium lactis sur du lisier brut et du lisier additionné de lactosérum (24/10). Nous avons d'ailleurs essayé de produire de la biomasse sur un plus grand volume en colonne avec agitation dans ces conditions les résultats sont donnés sur la figure 19. Nous constatons donc que O. Lactis croît durant 24 h dans le mélange lisier + lactosérum (20/10) ; au contraire dans le mélange à volume égal de lisier et de lactosérum il y a diminution du nombre de germes/ml jusqu'à ce que nous ajoutions à nouveau 200 ml de lisier ce qui fait un mélange de 2 volumes de lactosérum pour 3 volumes de lisier la culture croît durant 24 heures seulement ensuite il y a diminution de Oidium lactis, rappelons que ces essais sont effectués dans du lisier non stérilisé et qu'il doit y avoir des compétitions au niveau des espèces nous sommes d'ailleurs obligés d'utiliser des doses d'ensemencement assez fortes sinon il y a disparition immédiate du microorganisme.

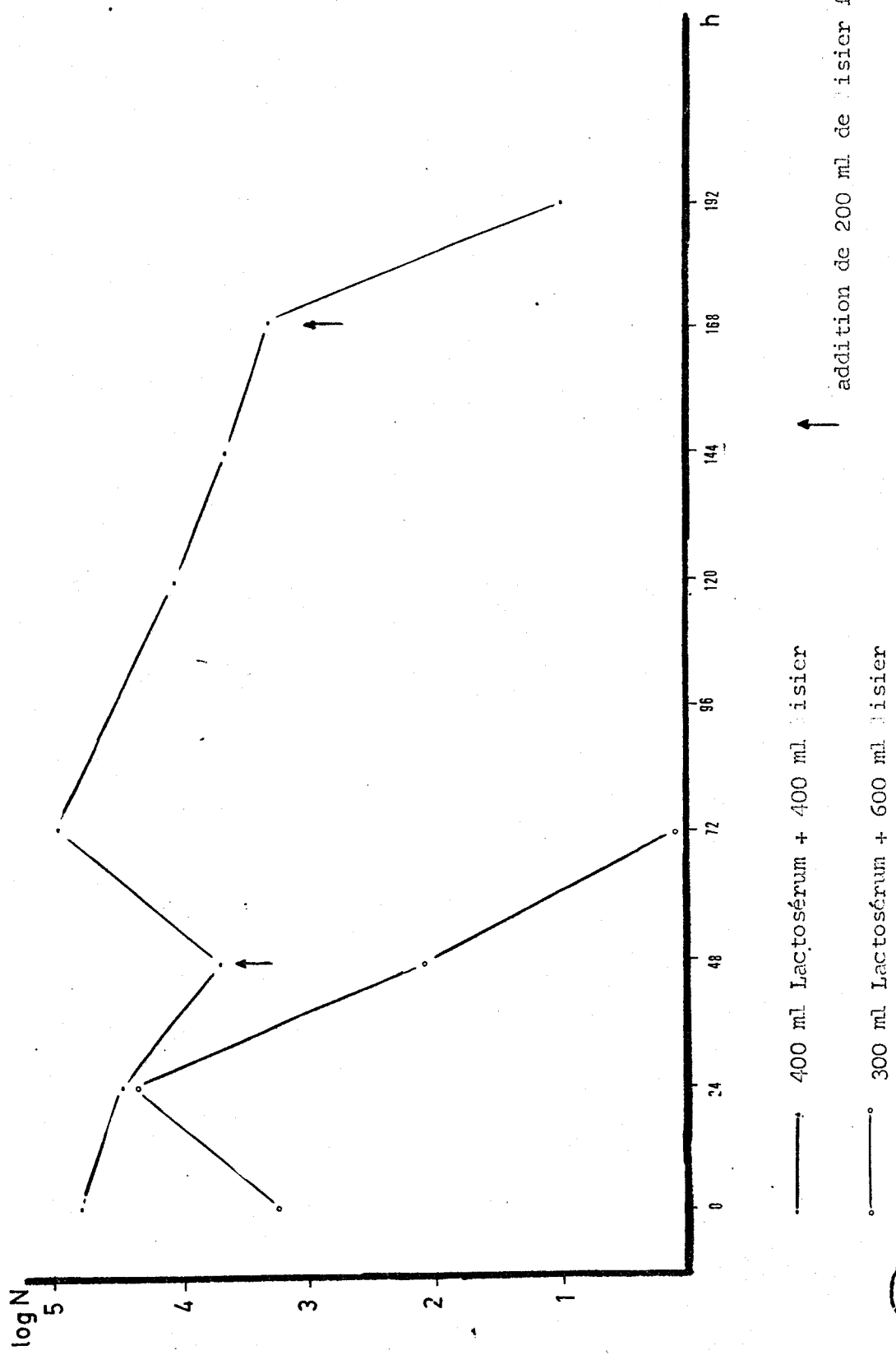
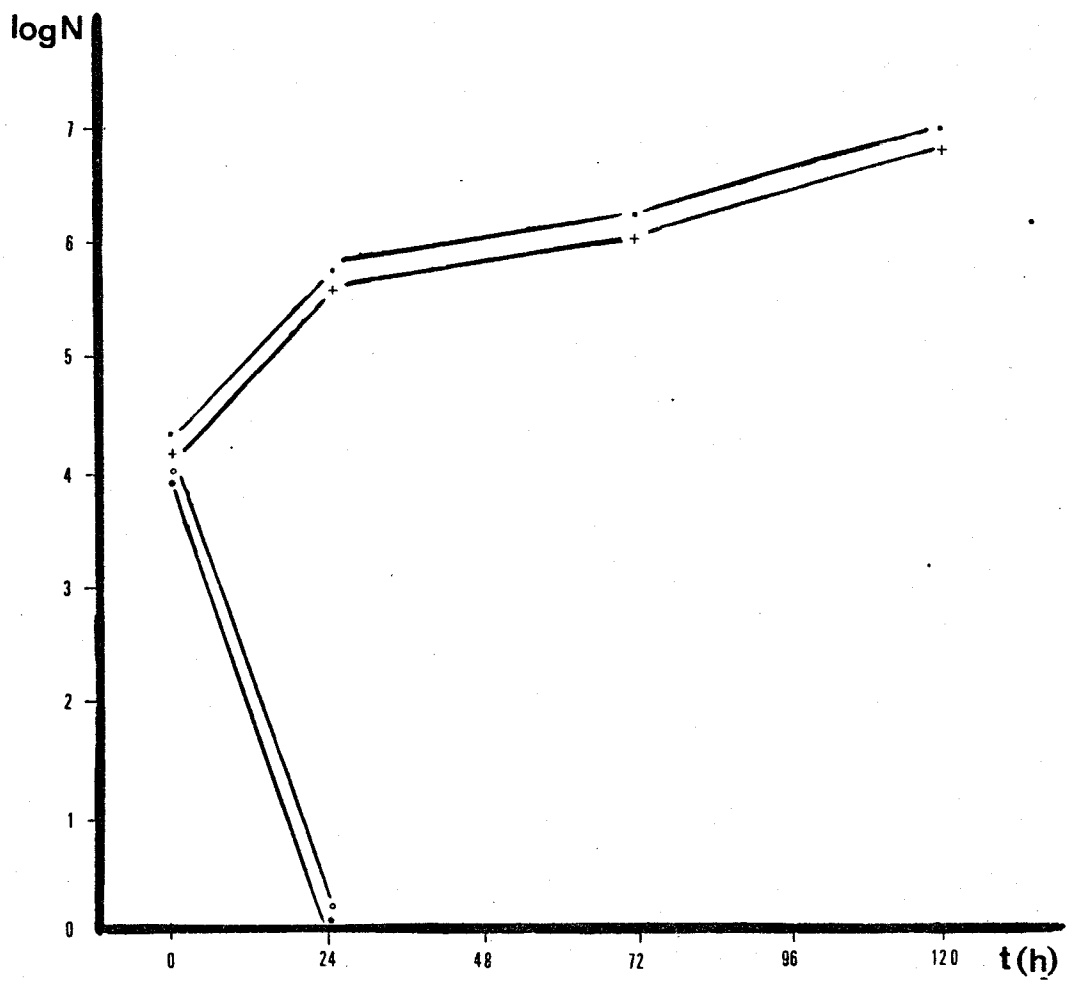


figure 19 : Essai biomasse *Ordium Lactis*



Oïdium lactis poss de une β galactosidase alors que les Candida en sont dépourvues, il semble donc que les Candida cultivent dans le lisier additionné de lactosérum en utilisant les protéines du lactosérum or nous désirons utiliser ce dernier comme source de carbone. Nous avons suivi l'évolution d'Oïdium lactis dans du lisier additionné de lactosérum déprotéiné (figure 20)



- 30 ml LS déprotéinisé (76 % lactose) à 30 g/l
- +—+— 30 ml LS déprotéinisé (76 % lactose) à 50 g/l
- x—x— 15 ml lisier + 15 ml LS déprotéinisé à 30 g/l
- 15 ml lisier + 15 ml LS déprotéinisé à 50 g/l

figure 20 : Croissance de O. Lactis sur lisier + lactosérum



Dans ce cas Oidium lactis ne cultive plus sur mélange lisier + lactosérum déprotéinisé mais par contre utilise le lactose de ce lactosérum ; ces résultats font penser cependant que dans les mélanges lisier + lactosérum complet ce sont les protéines du lactosérum qui sont dégradées préférentiellement et plus facilement que le lactose.

C. 5. Conclusion.

De ces essais de production de biomasse nous tirons la conclusion que le lisier est fort mal adapté à un tel emploi ; trop de facteurs ne peuvent être maîtrisés et dans ces conditions il est difficile de contrôler la croissance des microorganismes. Nous avons eu cependant quelques résultats positifs avec les Lactobacillus à condition que le lisier soit à pH 5,5 et Oidium lactis dans des conditions de culture à pH acide est également capable de se développer dans du lisier additionné de lactosérum mais il nous manque à notre avis un moyen de contrôle de la croissance plus efficace que les numérations sur plaque malheureusement nous ne pouvons pas suivre la croissance par mesure du poids sec ou par mesure du DNA le milieu n'étant pas stérile au départ et étant très complexe.

CONCLUSIONS GENERALES



CONCLUSION GENERALE

Cette étude a permis d'approfondir nos connaissances sur le lisier du porc, la réutilisation de ce résidu de l'élevage industriel comme substrat de croissance en vue de produire de la biomasse a été envisagée. Mais il a d'abord fallu trouver un procédé pour éliminer ou pour réduire les odeurs nauséabondes produites au cours du stockage de fosse et dues principalement à des fermentations de type anaérobie.

L'étude chimique montre que le lisier du porc peut constituer un amendement efficace pour les sols à condition que l'on respecte certaines précautions : connaissance de la composition des sols, épandages espacés dans le temps... Cette étude nous a également montré que le taux de carbone assimilable est faible, le rapport C/N est voisin de 1 et l'on considère généralement que ce rapport doit être de 5 pour qu'on assiste à une bonne croissance bactérienne. Ce rapport C/N faible explique les résultats médiocres obtenus dans nos essais de production de biomasse.

L'étude bactériologique a contribué à la connaissance d'un milieu qui jusque là n'avait pas fait l'objet de recherches précises. La flore des lisiers en fosse est principalement constituée par une flore aérobie-anaérobie facultative, nous trouvons par exemple une population importante de Lactobacillus. Nous avons montré que cette flore dérive de la flore fécale du porc et dans ce milieu "pauvre" elle survit ; nous avons constaté qu'il n'y avait pas de modifications importantes des proportions respectives des différentes espèces microbiennes. Le problème essentiel était de trouver une solution au dégagement d'odeurs. Il semble en effet urgent de pouvoir proposer aux éleveurs des procédés de traitement peu coûteux ; une loi votée par le Parlement en Juin 1975 veut contraindre l'éleveur à limiter la production d'odeurs désagréables ou à fermer son exploitation. Les traitements proposés doivent être efficaces et d'un prix de revient faible. Bien sûr les installations d'épuration sont efficaces mais les investissements demandés sont énormes, il existe aussi des produits commerciaux, plus ou moins chers, dont l'efficacité n'est pas toujours certaine ; il est possible cependant d'envisager des traitements avec certains produits, surtout lorsqu'il s'agit d'un petit élevage.

Nous avons préféré agir au niveau de la microflore en modifiant certains facteurs physico-chimiques : pH, action d'enzymes, action d'oxydants... Nous pensions ainsi arriver à faire se développer une flore particulière qui nous aurait permis ainsi de résoudre le problème des odeurs et de produire de la biomasse ; certains résultats positifs

ont été obtenus avec diverses souches de Lactobacillus extraites du lisier mais les résultats ne sont pas assez convaincants pour qu'on puisse envisager une expérimentation à plus grande échelle. De même la production de biomasse à partir de souches de levures dans du lisier désodorisé par action du charbon actif et supplémenté ou non en une source de carbone : le lactosérum se montre assez décevante.

Par contre l'aération du lisier modifie considérablement la composition de la microflore totale et en particulier de la microflore aérobie totale, en 48 heures la population de ces germes est multipliée par 100 ; cette microflore est alors constituée par des germes essentiellement aérobies : Micrococcus, Pseudomonas, qui constituent alors 90 % de la population bactérienne. Nous avons constaté que le rapport C/N se modifiait ce qui explique peut-être le démarrage de la croissance de certains microorganismes. De plus lors d'un tel traitement l'intensité des odeurs nauséabondes diminue considérablement pour aller jusqu'à disparaître après 3 jours. Cette expérience de laboratoire répétée à une échelle pilote (traitement de 100 litres de lisier) s'est révélée aussi efficace, il nous semble que les investissements nécessaires à un tel traitement soient faibles et ne dépassant pas les limites consenties par les éleveurs.

Nous avons tout au long de cette étude été guidé par le souci de trouver une solution simple et demandant peu d'investissements il semble que nous ayons réussi à ouvrir une voie, mais des essais sur pilote plus importants sont encore nécessaires.

BIBLIOGRAPHIE

• •

•

BIBLIOGRAPHIE

1. Atkinson H.J., Giles G.R et Desjardins J.G.
Canad. J. Agr Sci. 1954, 34; 76.80.
2. Baird-Parker A.C. an improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci
J. appl. Bact. 1962, 25, 12.19
3. Ballay D., Stambouli N.
Epuration des effluents de porcheries annexées à des fromageries in Journées de la Recherche Porcine en France 1974, 101-106.
4. Barloy J.
Aspects agronomiques de l'épandage du lisier de porc.
Séminaire sur la réduction des nuisances de porcheries. E. N. S. P. Rennes 1972, 18-22 juin
5. Barnes E.M, Ingram M.
The identity and origin of faecal Streptococci in canned hams
Ann. Institut. Pasteur Lille 1955, 7, 115-119
6. Bartley C.H, Slanetz
Types and sanitary significance of faecal Streptococci isolated from faeces, sewages and water.
Amer J. Publ. Hlth 1960, 50, 1945
7. Baxter S.H.
The Scottish Farm Buildings Investigation Unit., Aberdeen, Nov 1969.
8. Bell C.
Anaerobic digestion of dairy farms slurry
Effluent Water Treatment J. 1973, 13, 222-223
9. Bernard C.R.
Etude du compostage du lisier de porcs.
Publication UCAAB Chateau Thierry 1973
10. Bethea R. M. et Col.
Solutions pour les problèmes de prévention des odeurs provenant de l'élevage et de la préparation des produits animaux.
J. Air Pollution Control Ass. 1972, 22, 765-773
11. Bousfield S, Hobson P.N and Summers R.
Laboratory and small pilot-plant scale anaerobic digestion of piggery wastes, some aspects of the microbiology of anaerobic piggery waste digestion.
Farm Waste Disposal Conference Glasgow Sept. 1972.
12. Bridges J.H., Dyer I.A. and Powers J.J.
Penicillin and Streptomycin affect the microflora of the intestinal tract of pigs
J. Animal Sci, 1953, 12, 96
13. Briggs C.A.E, Willingate J.M, Braude R. and Mitchell K.G.
the normal intestinal flora of the pig. I Bacteriological methods for quantitative studies
Vet. Rec. 1954, 17, 241-242.

14. Buttiaux R.
Les streptococques fécaux des intestins humains et animaux
Ann. Inst. Pasteur 1958, 94, 778-782
15. Carot S et Stamboulin.
Etude du traitement des effluents de porcherie par lagunage
aéré 1973
16. Charles G. et Cetol M. J.
Contribution à la lutte contre les pollutions et la dégradation
des sols par les lisiers. Leur utilisation comme fertilisant.
Rennes, E.N.S.P. 1972, 15 p
17. Collet D
Problèmes d'odeur
Process Bioch. 1972, 7, 17-18
18. Coppenet M.
L'épandage du lisier de porc.
A la pointe de l'élevage 1970, 15, 2-6
19. C.T.G.R.E.F. Rennes
Etude de l'utilisation du lisier de porcherie comme fertilisant.
G.C.P.P.L., C.O.P.E.R.L, D.D.A. Côtes du Nord. Séminaire sur
la réduction des nuisances de porcherie. E.N.S.P. Rennes 1972, 18-22
juin.
20. Day D. L. , Hansen E.L. et Anderson S.
gaz et odeurs en porcherie fermées
Trans. ASAE 1965, 8, 118-122
21. Day D. L., Jones D. D. Converse J.C., Jensen A.M., Hansen E.L.
Oxidation ditch treatment of swine waste
Agr. Eng. 1971, 71-73.
22. Dickinson A.B et Mocuot G.
Studies on the bacterial flora of the alimentary tract of pigs
I. Enterobacteriaceae and other Gram negative bacteria.
J. Appl. Bact. 1961, 24, 252-284
23. Draughn A et O'Donnell A.
Agr. Food Chem. 1971, 19, 1049
24. Dumon R.
La lutte contre les odeurs ; nuisances d'un monde raffiné.
Chimie et Industrie Génie chimique 1972, 105, 1255-1260
25. Engrand E, Gauthier R. et Viguiet A.
Le lisier de porc : un souci pour beaucoup d'éleveurs
Publication UFAC 1974, N° 43/3
26. de la Farge B.
Nuisances et environnement. "Les Odeurs de porcherie"
Bulletin ITP 1973, 1/73, 9-18
27. Fewins B.G., Newland L.G. et Briggs C.A.E.
The normal intestinal flora of the pig. III Qualitative studies
of Lactobacilli and Streptococci.
J. Appl. Bact. 1957, 20, 234-242

28. Fournaraki A.
Les études lisier à la station expérimentale de l'ITP à
Villefranche de Rouergue B.I.L. n° 15, ITP 1972, 4p
29. Frankzy U.
Vet. Dent. Ing. 1970, 149, 291-
30. Fuller R, Newland L.G.M., Briggs C.A.E., Braude R. et Mitchell K
The normal intestinal flora of the pig. IV. The effect of
dietary supplements of penicillin, chlortetracyclin or copper
sulfate on the faecal flora
J. Appl. Bact. 1960, 23, 195-205
31. Fuller R. et Loy M.
Quantitative studies on some of the gram negative bacteria
in the pig alimentary tract.
J. Appl. Bact. 1964, 27, 434-438
32. Gayral P.
Pollution émise par le porc. Relations avec le stade physiolo-
gique et l'alimentation.
Séminaire sur la réduction des nuisances de Porcheries. ENSP
Rennes 1972 18-22 juin
33. Geldreich E.E., Bordner R.H., Huff C.B., Clark H.F. et Kabler P.W.
Type distribution of Coliform Bacteria in the feces of Warm
Blooded Animals.
J. Water Pollution Control Federation 1962, 34, 295-301
34. Gousse R, Bernard M et Weil A.
Compte rendu d'expérimentation sur la microbiologie des lisiers
épurés à la station de l'ITP à Villefranche de Rouergue.
Communication personnelle.
35. Grainger J. M.
Microbiology in the aerobic treatment of farm waste
Process Biochem. 1973, 8, 28-30
36. Helmer R.
Technique de lutte contre les odeurs : dispositif avec filtre
de terre.
Tierzüchter 1972, 24, 243-244
37. Heyman J.C.
Le traitement des effluents de porcherie
I.T.P., 1971, 103 p
38. Hobson P.N et Shaw B.G.
The anaérobic digestion of waste from an intensive pig unit
Water Research 1973, 7, 437-439.
39. Jones D.D., Day D.L., Converse J.C.
Field tests on oxidation ditches in confinement swine buildings
in Animal Waste Management Ed. Loehr. Ithaca N.Y. 1969, 160-172
40. Kenner B.A., Clark H.F et Kabler P.W.
Fecal Streptococci II Quantification of Streptococci in faeces.
Am. J. Public Health 1960, 50, 1553-1559

41. Koelliker J.K. et Miner J.R.
Dénitrification biologique d'effluents de porcheries traités
préalablement par lagunage anaérobie
Engineering Bull. of Purdue Univ. 1970, 472-480
42. Lai C., Chuang Y, Sang S.
A research report on the treatment of industrial and agricultural
waste Taiwan Sugar 1974, 21, 37-41
43. Leveau J.H.
Variations des effluents de porcherie en fonction du stade phy-
siologique et du mode d'alimentation. Problèmes d'épuration.
Mémoire fin d'études. ENSA Rennes 1971
44. Litsky W, Mallmann W.L. et Fifield C.W.
A new method for the detection of Enterococci in water
Amer. J. Publ. Hlth. 1953, 43, 873-880
45. Loehr R.C.
Pollution implications of animal wastes. A forward oriented
review.
U.S. Dep. Interior. Fed. Water Pollution Control Adm.
Robert S. Kers Water Res. Center, Ada. 1968, 175 p
46. Lowry G.H, Rosebrough N.I, Faer A.L and Randall R.J.
Protein measurement with folin phenol reagent
J. Biol. Chem., 1951, 193, 265-275
47. De Man J.C, Rogosa M and Sharpe M.E.
A medium for the cultivation of Lactobacilli
J. Appl. Bact : 1960, 23, 130-135
48. Mann H.
A low cost high-rate ponding filter for farm use.
Farm Waste Disposal Conference. Glasgow Sept. 1972
49. Merkel J.A.
Atmospheric composition in an enclosed swine production building
Ph. D. Dissert. Iowa State University. Ames (Iowa) 1968
50. Mieth H.
Untersuchungen über das Vorkommen von Enterococci bei Tieren und
menschen. III Die Enterococci flora in des Faeces von Rindern
Tent. BL. Bakt Parasitk. Abt. I. Orig. 1962, 185, 47-52
51. Miner J.R.
Farm Animal Waste Management. Iowa State University. Ames Iowa
1970 Special Report, 67 p
52. Morellis P.
Un milieu sélectif du dénombrement de Streptococci faecalis et ses
varieties (Enterococcus)
Thèse : Villefranche sur Saône, Imprimerie du Commerce
53. Moutoussis C, Papavassiliou J and Samarakis-Lyberopoulou V.
Streptococcus faecalis of human contamination of food :
Distribution of Streptococcus faecalis in human and animal faeces.
Congrès Int. Microbiol Stockholm 1958 p 441.

54. Namioka S., Murata M., Osada H., Ishizawa T and Kuro-Oka R.
Comparative studies on behaviour of the intestinal flora between suckling piglets and early weaned piglets fed commercialized artificial milk and piglets fed milk containing less protein. Jap. J. Vet. Sci. 1965, 27, 221.
55. Nuru S., Osbaldiston G.W., Stowe E.C., Walker D.
Fecal microflora of healthy cattle and pigs
Cornell Veterinarian 1972, 62, 242-253.
56. Oke, R.W., Balakrishnan S.
The economics of swine disposal. Livestock Waste Management and pollution abatement. Proc. of the Int. Symp. on Livestock Waste ASAE Puble. 1971, 199-203
57. Pesti L.
Qualitative and quantitative examination of the bacterial flora in the intestines of healthy pigs. I. Intestinal bacterial flora of pigs of different ages
Acta Veter. 1962, 12, 299
58. Quinn L.T., Story S.D., Catron D.V., Jensen A.H. and Whalen W.M.
Effect of antibiotics on the growth rate and intestinal flora of swine.
Antb. and Chemoth 1953, 3, 527
59. Raibaud P., Caplet M., Galpin J.V. and Mocquot G.
Studies on the bacterial flora of the alimentary tract of pigs
II Streptococci : selective enumeration and differentiation of the dominant group.
J. Appl. Bact. 1961, 24, 285-306
60. Robertson A.M.
Controlling those piggery smells.
Pig Farming 1972, 58-59
61. Robertson A.M.
The control of odors from piggeries.
Farm Building Prog. 1973, 33, 21
62. Rogosa M, Mitchell J.A. and Wiseman R.F
A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal Lactobacilli
J. Bact. 1951, 62, 132-133
63. Salmon-Legagneur, Gayral J.P., Leveau J.M., Rettagliati J.
Etude de quelques paramètres de variation de la composition des effluents de porcheries
Journées de la Recherche Porcine en France, Paris INRA-ITP ed., 1973, 285-291.
64. Schmid L.A., Lipper R.I.
Swine wastes characterization and anaerobic digestion.
in animal waste Management, Ed. Loehr. Ithaca N.Y. 1969, 50-58
65. Sobel A.T.
Measurement of the odor strength of animal manures.
Animal Waste Management, Cornell University 1969, 260

66. Sobel A.T.
Measurement of the odor strength of animal manures
trans. ASAE 1972, 15, 696.
67. Stambouli N.
Nuisances et pollution par les porcheries
Bulletin ITP 1973, 2, 9-20
68. Taiganides E.P. and Hazel T.E.
Properties of farm animal excreta.
Trans. A.S.A.E 1966, 2, 374-376
69. Taiganides E.P., White R.D.
Automated handling, treatment and recycling of water from
an animal confinement production unit. Livestock Waste Management
and pollution abatement. Proc. of the Int. Symp on Livestock
Wastes ASAE Pubi 1971, 146-148
70. Uchida K, Kataoka K., Mitsuoka T., Shinjo T. and Ogata M.
Studies of the intestinal flore of pigs; I. The faecal bacterial
flora of the healthy pig.
Jap. J. Vet. Sci. 1965, 27, 215.
71. Vasseur J.
Le problème du lisier
Génie Rural 1973, n° 5, 133-137
72. Van der Heyde H. und Henderickx H.
Quantitative Untersuchungen der Flora des Verdauungskanalıs von
Sangferkeln.
Zentr. BL. Bakt. Parasitk. Abt. I Orig. 1964, 195, 215-226.
73. Van der Heyde H.
Bijrage tot de studie van de maagdarmflora van de big.
Thesis, Fakulteit Landbouw, Universiteit Gent. 1968
74. Van der Heyde H.
Microbiologie der Verdauring beim Schwein.
in Biologie und Biochemie der Mikrobiellen Verdauring-Giesecke
und Henderickx. ed : BLV Verlagsgesellschaft. München 1973,
305-325.
75. Weil A., Bernard C.R. et Régulier J.M.
La désodorisation du lisier
UCAAB, Chateau Thierry 1974, 32 p
76. Willsens A. und Cottyn B.
Vergelykende taxonomiseke studie van enkele thermotolerante
Lactobacillen. Meden. von de Landbouw ogeschool en de Opzockings-
stations van de Staat te Gent. 1963, 28, 1261
77. Wilson M., Houghton J.A.
Growth of algae on pig manure
Irish J. Agrie. Res. 1974, 13, 49-60
78. X.
Carbon suspension removes kraft octors
Carrad. Chemical Processing 1972, 42-44.

79. Zojtsev K.P., Fedorov N.E., Leshchenko I.I., Vorvnevsky
S.I., Schlejzer M.S.
Essai d'utilisation du fumier de porc dans la préparation
des levures alimentaires.
Dokl. varsojuz. Akad. sel'skokhoz. Nauk 1972, 5, 36-37
80. FMC Corp. Brevet 2.187.729 (B) (73 19 363) 28 mai 1973 : Procédé
de traitement du fumier.



A N N E X E
• •
•

ANNEXE

LISTE DE QUELQUES PRODUITS DESODORISANTS LE LISIER

I Les désodorisants chimiques.

Anthium Dioxide commercialisé par Ets Devineau	
GAP	Soc. Eldin
Stanex	Vetavia
Solvex	National Chemsearch France
Sentyl	Sicca
Ziliox	Protel

II Les agents masquants aromatiques

Alamask DPPR 5	Rhône Poulenc
Nardeau PEACH Blossom	Naarden

III Les désodorisants biologiques

AMB 14	Laboratoires ANIOS
Odorquell	Squilb
Enzobac 3 000	Ets Planchet

