

EVOLUTION DES SEUILS DE REFERENCE POUR *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* DANS LES MFSC PRESENTEES A L'HOMOLOGATION

Isabelle DEPORTES (ADEME) Alain CUDENNEC, Jean-Pierre GANIERE (ONIRIS), Anne-Marie POURCHER (cemagref), Emmanuel GACHET (Anses), Geraldine KLEGOU (Anses), Karine ANGELI (Anses), Corinne BITAUD (Anses¹)

Dans le domaine des matières fertilisantes et des supports de culture (MFSC), l'article L 255 du Code Rural et de la Pêche Maritime exige des fabricants qu'ils vérifient l'innocuité de leurs produits vis-à-vis de l'Homme, des animaux et de leur environnement. Certains des critères d'innocuité sont d'origine biologique et une liste minimale de microorganismes à rechercher dans les produits a été définie. Les microorganismes constituant cette liste sont de deux ordres : i) des microorganismes dits pathogènes : leurs caractéristiques biologiques en font des organismes dangereux pour la santé des hommes, des animaux ou des végétaux (ex : *Salmonella TYPHIMURIUM*, *Listeria monocytogenes*) ; ii) des microorganismes dits indicateurs : ils ne sont pas nécessairement pathogènes et on dispose de méthodes de routine pour leur analyse. Les indicateurs peuvent être mesurés dans les produits finis afin de contrôler l'efficacité du traitement ou d'identifier une contamination. Ils peuvent également être suivis pendant des traitements pour valider les procédés et les conditions d'hygiénisation.

L'homologation et la normalisation des MFSC retiennent des valeurs de référence pour les microorganismes. Ces valeurs de référence, parfois divergentes, sont issues de processus de décisions différents et sont tirées d'analyses scientifiques méritant d'être régulièrement actualisées. Sur ce constat, l'Anses (anciennement AFSSA) a souhaité entamer une réflexion sur les critères et les seuils microbiologiques à appliquer aux MFSC, notamment dans le cadre de la constitution de dossier de demande d'homologation. Le Comité d'Experts Spécialisés MFSC a commencé cette réflexion par le critère *Clostridium perfringens* (Anses 2010) envisagé sous deux angles : *C. perfringens* en tant que microorganisme pathogène et *C. perfringens* en tant qu'indicateur. L'ensemble des rôles d'indicateur pour *Clostridium perfringens* a été envisagé par le groupe de travail (efficacité de traitement, contamination, validation des procédés). Cependant, le présent résumé rapporte les, seules conclusions pour *Clostridium perfringens* en tant que microorganisme pathogène et *C. perfringens* en tant qu'indicateur mesurant l'efficacité des traitements (dans le produit fini). A ce jour, le critère *C. perfringens* (spores et/ou formes végétatives) est utilisé avec des seuils différents (couvrant la gamme : absence dans 1g jusqu'à 1000 UFC/g) dans le Guide pour la Constitution des Dossiers de Demande d'Homologation des Matières Fertilisantes et des Supports de Culture (Cerfa 50644) et dans la norme NF U44-095 (norme relative aux Matières d'Intérêt Agronomique Issues du Traitement des eaux).

Les *C. perfringens* sont des bactéries ubiquistes, anaérobies aérotolérantes. Elles sont sporulantes et présentent une grande résistance dans le milieu extérieur et à certains traitements (thermiques notamment). On considère généralement que les principaux réservoirs sont le sol et le tractus intestinal des hommes (y compris sains) et des animaux (volailles, bovins, porcs, poissons). Ainsi, les concentrations maximales en *C. perfringens* dans des matières organiques d'origine fécale et pouvant avoir une vocation de MFSC (déjections animales, boues de station d'épuration non traitées) sont de l'ordre de 10⁵ UFC/g.

Chez l'homme, *C. perfringens* est parfois responsable d'infections graves, voire létales, telles que des gangrènes gazeuses secondaires à la contamination de plaies profondes ou des septicémies compliquant certaines affections, notamment de cancer intestinal. Par ailleurs, les toxi-infections alimentaires (TIA) liées à cette bactérie (diarrhées violentes et douloureuses non fébriles sans vomissements) sont causées par l'entérotoxine produite lors de la sporulation dans l'intestin grêle.

¹ Actuellement au MAAPRAT

Chez les ruminants, chevaux, porcs et volailles, *C. perfringens* est une cause importante d'entérotoxémies ou d'entérites nécrotiques. Il n'a pas été retrouvé dans la littérature de cas de maladies à *C. perfringens* chez l'homme ou l'animal en lien avec l'exposition aux MFSC.

Compte tenu des données disponibles de la littérature, des méthodes d'analyse disponibles et des avis d'experts, le groupe de travail propose les conclusions suivantes :

1/ Les *C. perfringens* présents dans les MFSC, en tant qu'agents pathogènes, semblent ne présenter qu'un risque faible pour l'homme ou l'animal. Cependant, aucune étude quantitative des risques liés à *C. perfringens* n'a été effectuée ou retrouvée dans la littérature. Dans ce contexte, il est jugé impossible de fixer un seuil garantissant l'innocuité des MFSC au regard de *C. perfringens*.

2/ Par ailleurs, parmi les indicateurs microbiens proposés dans le cadre de l'homologation, *C. perfringens* est le seul pouvant adopter une forme sporulée (et représenter ainsi les microorganismes ayant des formes de résistance). Il est donc pertinent de conserver ce paramètre dans les analyses à fournir lors des demandes d'homologation. La valeur actuellement proposée est une absence de *C. perfringens* dans 1g de produits, quel que soit l'usage des MFSC. Cependant, certains usages sont plus sensibles au regard du risque microbiologique (végétaux consommés crus par exemple). Il paraît ainsi justifié de fixer deux dénombrements en fonction des usages, comme cela est déjà en vigueur pour les autres indicateurs (*E. coli* et entérocoques). Les méthodes d'analyse par dénombrement ont un seuil de détection de 10 *C. perfringens* /g. Il est proposé que ce seuil le plus exigeant soit appliqué aux cultures les plus sensibles au regard du risque microbiologique. Pour les autres cultures, un seuil de 10² est jugé acceptable. De plus, les MFSC étant des matrices hétérogènes, il est proposé que les seuils soient accompagnés d'écarts acceptables calculés selon le principe de la norme NF U44-169 (Amendements organiques et supports de culture - Analyses microbiologiques - Échantillonnage et grille de lecture des résultats). Les seuils et leurs écarts acceptables sont présentés au tableau 1.

	Légumes frais et, prairies et gazons	Toutes cultures sauf légumes frais et, prairies et gazons
<i>Clostridium perfringens</i> (spores et formes végétatives)	m=10 spores ou formes végétatives /g M=10 ² spores ou formes végétatives /g n=3 ; c=1 ;	m=10 ² spores ou formes végétatives /g M=10 ³ spores ou formes végétatives /g n=3 ; c=1

Tableau 1 : nouveaux seuils pouvant être pris en considération lors des demandes d'homologation de MFSC pour *Clostridium perfringens*

m = valeur seuil donnée. Tous les résultats d'analyses égaux ou inférieurs à ce chiffre sont considérés comme satisfaisants, tous les résultats supérieurs à ce chiffre sont considérés comme non satisfaisants sans pour autant être inacceptables.

M = seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants.

n = nombre d'échantillons soumis à l'analyse pour évaluation du lot de produit.

c = nombre d'échantillons acceptables, donnant des valeurs situées entre m et M.

Ces nouveaux seuils ont été proposés par le Groupe de travail et sont repris dans la Note d'information aux pétitionnaires concernant l'homologation des MFSC (Anses 2011)

Références :

Anses. 2010. Eléments pour une analyse qualitative des risques liés à la présence de *Clostridium perfringens* dans les Matières Fertilisantes et les Supports de Culture. Rapport du Groupe de Travail, CES Matières Fertilisantes et Supports de Cultures.

Anses. 2011. Note d'information aux pétitionnaires concernant l'homologation des MFSC – État des exigences scientifiques. Disponible en ligne : <http://www.anses.fr/Documents/DPR-Ft-MFSC2011-06.pdf> – Consulté le 11/10/2011.

