

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option: Biologie Moléculaire et cellulaire : Biologie Moléculaire de procaryotes

Département: science de la nature et de la vie

**Thème: Etude microbiologique des boues liquide de la ville de
Guelma**

Présenté par : Aouissi Hala

Dzikeur Nesrine

Mebaoudj Zahra

Devant le jury composé de :

Président: Benouareth D.E.

Pr.

Université de Guelma

Examinatrice : Benhalima L.

M.A.A.

Université de Guelma

Encadreur :Khallel M.

M.C.B.

Université de Guelma

Juin 2016

REMERCIEMENT

Nous remercions le dieu tout puissant de nous avoir donné la force et le courage de mener à terme ce modeste travail.

*Au terme de ce travail nous tenons à remercier tout d'abord et infiniment notre encadreur Mme **Khallef Messaouda**. Qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, sa compétence et ses conseils pertinents ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.*

*Nos remerciements les plus vifs s'adressent également au Pr. Mr **Benouareth Djamel Eddine** de nous 'avoir accepté la présidence du jury de ce mémoire. Nous exprimons également notre reconnaissance à Mme **Benhalima Lamia** qui a accepté de participer à ce jury et de juger ce travail.*

Nous tenons à remercier nos enseignants à l'université depuis la première année.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

A tous ceux que j'ai oublié de citer.

Merci

DEDICACES

Je dédie ce travail à :

*Ma très chère mère qui m'a toujours apportée
son amour et son affection*

*Mon cher père, qui m'a toujours encouragée, conseillée et
soutenue dans mon travail*

Ma très chère sœur SALY

Ma très chère petite sœur JIJI

Mes très chers frères LAMINE, IBRAHIM, SIRAJ

Mon mari, qui m'a vraiment encouragée

Toute ma famille et belle famille

Mes camarades de la promo de biologie moléculaire des procaryotes

2016/2017

*Mes très chers amis HALA, KHADRA, NESRINE, ISLAM, MOURAD, AHLAM,
ASMA, TASNIME, IKRAM ET MARWA*

ZAHRA

DEDICACES

Je dédie ce travail à :

*Ma très chère mère qui m'a toujours apportée
son amour et son affection*

*Mon cher père, qui m'a toujours encouragée, conseillée et
soutenue dans mon travail*

Mes très chères sœurs ASMA et petite sœur IKRAM

Ma très chers frères AMIR

*Toute ma famille Mes grandes mères, mes grands pères, oncles et mes cousines et
mes petites oiseaux TASNIM, WISAL, DHIAE, RAOUEF, MINO, IYAD, CHAIMA,
ZAKI, WAIL, SALSABIL, KHOLOD, AYA, MOUAD, FAIF, KARIM, MOHAMED
RAHMA, HOUA, MOUHAMED SALAH, RHIDA, CHAMSO, et RAZANE*

*Mes très chers amis NOUR, KHADRA, AMINA, KHAWLA, SANA, NADJETTE,
HALA, IMEN, ISLAM, ZAHRA, HOUCINE, MOURAD, AHLAM, AMAL,
MOUNA, SAFA, RAWNEK, ICHRAK, ET MARWA*

NESRINE

DEDICACES

Je dédie ce travail à :

Ma très chère mère qui m'a toujours apportée son amour et son affection

Mon cher père, qui était toujours à mon cœur

Mes très chères sœurs NASSIMA, MENEL, SAFA, MARWA, AMIRA

Mes très chers petits frères IYAD, ANAS

Mon mari NOUREDDINE, qui m'a vraiment encouragée

Toute ma famille surtout

Grand-mère ZAKIA, oncles NOUREDDINE, MOHAMED ELARBI, HOUSSINE,

cousines MERYEM, GHANIA, MALIKA et ses enfants HASSAN, HOUSSINE,

MIDOU, CHIHAB, AMAR, BRAHIME, SAMI, SALEH, MERYEM, KAUTHER,

ASILE, YASSINE, MOUDI

Mes très chers amis, ASMA, KHADRA, NESRINE, IKRAM, ZAHRA, MANEL,

AHLAM,

Tous ce qui mon aide a mon travail

HOUSSINE, ISLAM, MOURAD

HALA

Table de matière

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....	1
-------------------	---

Etude bibliographique

Chapitre I : traitement des eaux usées et des boues

I. Traitement des eaux usées	3
1. Définition des eaux usées	3
2. Caractéristiques des eaux usées.....	3
2.1. La matière en suspension (MES).....	3
2.2. La Demande Chimique en Oxygène (DCO)	4
2.3. La Demande Biochimique en Oxygène (DBO ₅)	4
2.4. Micropolluants organiques et non organiques.....	4
2.5. Nutriments	4
2.6. Les micro-organismes.....	5
3. Type des eaux usées.....	5
3.1. Les eaux de ruissellement.....	5
3.2. Les eaux usées domestique.....	5
3.3. Les eaux usées agricoles.....	6
3.4. Les eaux usées industrielles.....	6
4. Les filières de traitements des eaux usées.....	6
4.1. Le prétraitement.....	6
4.1.1. Le dégrillage.....	6
4.1.2. Le Dessablage.....	7
4.1.3. Le dégraissage-déshuilage.....	7
4.1.4. La neutralisation	8
4.2. Le traitement primaire (décantation - flottation).....	8
4.2.1. La décantation primaire classique.....	8
4.2.2. La flottation (processus physique).....	9
4.2.3. L'utilisation d'un décanteur lamellaire.....	9
4.2.4. La coagulation-floculation.....	9
4.3. Traitements biologiques : traitements secondaires.....	10

4.3.1. Le lit bactérien ou granulaire (culture fixe).....	10
4.3.2. Les bio-disques (culture fixe).....	11
4.3.3 Les boues activées (culture libre).....	11
4.3.4. Le lagunage (culture libre).....	12
4.4. Traitement tertiaire.....	15
3.4.1. La désinfection par chloration.....	15
4.4.2. La désodorisation.....	15
4.4.3. La déphosphoration.....	15
II. Traitement des boues.....	16
1. Définition des boues.....	16
2. Caractéristiques des boues.....	16
2.1. Matière sèche MS et siccité S.....	16
2.2. Matières en suspension MES.....	17
2.3. Fraction volatile FV (en % des MS).....	17
2.4. Indice de boue SVI (Sludge Volume Index).....	17
2.5. Matières organiques.....	17
2.6. pouvoir calorifique inférieur (PCI).....	17
2.7. Les Micropolluants.....	18
2.8. Les microorganismes des boues de station d'épuration.....	18
3. Les différents types de boues.....	20
3.1. Selon l'état physique.....	20
3.1.1. Les boues liquides.....	20
3.1.2. Les boues pâteuses.....	20
3.1.3. Les boues chaulées.....	20
3.1.4. Les boues solides compostées.....	20
3.2. Selon l'origine.....	21
3.2.1. Les boues physico-chimiques.....	21
3.2.2. Les boues de l'épuration biologique.....	21
3.2.3. Les boues de fermentation (les boues de digestion).....	21
3.2.4. Les boues tertiaires.....	21
3.2.4. Les boues mixtes.....	22
4. Filière de traitement interne à la station d'épuration.....	22

4.1. L'épaississement.....	22
4.2. La stabilisation.....	22
4.2.1. Par digestion anaérobie.....	23
4.2.2. Par digestion aérobie.....	23
4.2.3. Par stabilisation chimique.....	23
4.2.4. Par pasteurisation.....	23
4.3. Conditionnement.....	23
4.4. La déshydratation.....	24
4.4.1. Séchage par des procédés mécaniques.....	24
4.4.2. Séchage sur lit.....	24
4.4.3. Séchage thermique.....	25
5. Élimination finale des boues et les risques liées.....	25
5.1. La valorisation agricole.....	25
5.2. L'incinération.....	26
5.3. Mise en décharge.....	26
III. Traitement des boues par des nanoparticules d'argent.....	26
1. Définition des nanoparticules.....	26
2. Intérêt des nanoparticules et de leurs propriétés.....	26
3. L'effet des nanoparticules d'argent sur les microorganismes du sol.....	27

Etude expérimentale

Matériel et méthodes

1. Le mode de prélèvement et de transport des boues liquide.....	29
2. L'analyse bactériologique.....	30
2.1. Recherche et dénombrement des bactéries aérobies révivifiables (germes aérobies mésophiles ; hétérotrophes).....	30
2.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale.....	32
2.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux.....	32
2.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	34
2.2.3. Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito- réducteurs (ASR).....	36
2.3. Recherche et dénombrement des <i>Streptomyces</i>	38
2.4. Recherche des germes pathogènes.....	39
2.4.1. Recherche et dénombrement du <i>Pseudomonas</i>	39

2.4.2. Recherche des <i>staphylocoques</i>	41
2.4.3. Recherche des entérobactéries.....	42
2.4.4. Recherche des <i>Vibrios</i>	45
2.4.5. Recherche des levures.....	47
3. Identification des bactéries isolées.....	48
3.1. Examen macroscopique des caractères culturaux.....	48
3.2. Examen microscopique après coloration de Gram.....	49
3.3. Profil biochimique.....	49

Résultats et Discussion

Résultats.....	57
Discussion.....	67
Conclusion.....	70

Références bibliographiques

Annexes I

Annexes II

Annexes III

Annexes IV

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

tableaux	titre	page
Tableaux 1	Avantages et inconvénients des différentes filières de traitement des eaux usées.	14
Tableau 2	Les différents germes pathogènes dans les boues	19
Tableaux 3	Les opérations de traitement des boues et leurs objectifs.	22
Tableaux 4	Résultats de dénombrement des bactéries indicatrices de contamination dans les boues liquides avant et après traitement aux nanoparticules d'argent (NAg).	57
Tableau 5	Résultats de dénombrement des <i>streptomyces</i> dans les boues résiduelles avant et après traitement aux NAg.	60
Tableaux 6	Résultats de dénombrement des bactéries pathogènes dans les boues liquides avant et après traitement aux nanoparticules d'argent (NAg).	61
Tableaux 7	Détermination du rapport quantitatif.	68
Tableaux 8	Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées.	
Tableaux 9	Résultats de l'identification biochimique par les API systèmes des germes isolés.	

Liste des figures

figure	titre	page
Figure 1	les eaux usées.	3
Figure 2	Mécanisme du dégrillage.	7
Figure 3	Mécanisme du dégrillage et dégraissage.	8
Figure 4	Le bassin circulaire de la décantation primaire.	9
Figure 5	Schéma d'un procédé de coagulation- floculation.	10
Figure 6	Schéma d'un Procédé Lit bactérien.	11
Figure 7	Schéma d'un procédé Disques biologiques.	11
Figure 8	Schéma d'un procédé boues activées.	12
Figure 9	Le lagunage.	13
Figure 10	les boues.	16
Figure 11	Lits de séchage des boues.	25
Figure 12	Schématisation des possibles mécanismes de toxicité des sur des cellules bactériennes. CYP=cytochrome P	28
Figure 13	Schéma de station d'épuration de la ville de Guelma.	29
Figure 14	Recherche des germes totaux.	31
Figure 15	Recherche et dénombrement des coliformes.	34
Figure 16	Recherche et dénombrement des streptocoques.	36
Figure 17	Recherche et dénombrement des ASR.	38
Figure 18	Recherche des <i>Streptomyces</i> .	39
Figure 19	Recherche <i>Pseudomonas</i>	41
Figure 20	Recherche des <i>Staphylocoques</i> .	42
Figure 21	Recherche des Salmonelles.	44
Figure 22	Recherche des Shigelles.	45
Figure 23	Recherche des Vibrions.	47
Figure 24	Recherche des <i>Candida albicans</i> .	48
Figure 25	Les étapes de coloration de Gram.	49
Figure 26	Test d'oxydase.	50
Figure 27	Test catalase.	51
Figure 28	Une API 20 E	53

Figure 29	Une API 20 NE.	54
Figure 30	Une API Staph.	55
Figure 31	Une API C AUX.	56
Figure 32	Représentation graphique des Germes totaux FAM avant et après traitement aux NAg.	58
Figure 33	Représentation graphique des Coliformes totaux avant et après traitement aux NAg.	59
Figure 34	Représentation graphique des Coliformes fécaux avant et après traitement aux NAg.	59
Figure 35	Représentation graphique des Streptocoques fécaux avant et après traitement aux NAg.	60
Figure 36	Représentation graphique des <i>Streptomyces</i> avant et après traitement aux NAg.	61
Figure 37	présentation graphique des Salmonelles avant et après traitement aux NAg.	62
Figure 38	Représentation graphique des <i>Staphylocoques</i> avant et après traitement aux NAg	63
Figure 39	Représentation graphique des <i>Pseudomonas</i> avant et après traitement aux NAg.	64
Figure 40	Représentation graphique des <i>Vibrio chlorique</i> avant et après traitement aux NAg.	65
Figure 41	Représentation graphique des levures avant et après traitement aux NAg.	66

Liste des abréviations

ADN	acide désoxyribose nucléaire.
Ag	ion argent.
ARN	acide ribose nucléaire.
ASR	Anaérobie sulfito-réducteur.
BCPL	Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol.
BS	Boue solide.
BL	Boue liquide.
C	carbone.
°C	Degré Celsius.
Cd	Cadmium.
CF	Coliformes fécaux.
Cr	Chrome.
CT	Coliformes totaux.
CTO	Composés Traces Organiques.
Cu	Cuivre.
DBO5	Demande biologique de l'oxygène.
DCO	Demande chimique de l'oxygène.
D /C	Double concentration.
E	Entérobactérie.
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i> .
EPA	Eau peptonée alcaline.
Eva	Bouillon à l'éthyle violet et aide de sodium.
Fe	Fer.
Fe ²⁺	ion de fer.
FeS	Sulfure de fer.
Fig	Figure.
FMAT	Flor mésophile aérobie totaux.
FV	Fraction volatile.
GELM	Gélose à l'extrait de levure et de malt.
GNAB	Gélose nutritive alcaline biliée.

GN	Gélose nutritive.
g/l	gramme par litre.
H	hydrogène.
h	Heure.
HAP	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.
Hg	Mercure.
H ₂ O ₂	Eau oxygéné.
IND	Indole.
K ₂ O	Oxyde de Potassium.
m	mètre.
m ³ / jour	mètre cube par jour.
MES	Matière en suspension.
Mg	Magnésium.
min	minute.
mm	millimètre.
ml	millilitre.
mol/l	molarité par litre.
Ms	Matière sèche.
MV	Masse volumineuse.
n	normalité.
N	Azote.
Na ₂ SO ₃	sulfite de sodium.
nAg	nanoparticule d'argent.
NE	Non entérobactérie.
Ni	Nickel.
NPP	Nombre le plus probable.
O ₂	Oxygène.
OMS	Organisation mondial de santé.
OX	Oxygéné.
P	Phosphore.
Pb	Plomb.
PCB	Polychlorobiphényles.
PCI	pouvoir calorifique inférieur.

pH	Potentiel d'hydrogène.
Pt/l	teneur en phosphore par litre.
Rothe	Bouillon à l'azide de sodium.
S	Soufre.
S/C	Simple concentration.
SF	<i>Streptocoque fécaux.</i>
SFB	Sérum Fœtal Bovin.
SS	<i>Salmonella-Shigella.</i>
Staph	<i>Staphylocoque.</i>
STEP	Station d'épuration des eaux polluées.
SVI	Indice de boue.
Tab	Tableau.
TDA	Tryptophane désaminase.
TGEA	Glucose tryptone extrait agar.
UFC/ml	Unité formant colonie par millilitre.
UV	Ultra violet.
VF	Viande Foie.
VP	Voges-Proskauer.
Zn	Zinc.

Introduction

Introduction

Le développement des activités humaines et l'évolution des modes d'habitat, tant en milieu urbain qu'en milieu rural, se sont accompagnés par des rejets polluants solides, liquides et gazeux, menaçant la santé des hommes, des animaux et des végétaux. Nous sommes donc dans l'obligation d'épurer nos eaux usées, afin d'éviter les catastrophes et en même temps, la rareté de la source en eau se faisant sentir au cours des prochaines années. Une demande de plus en plus forte en eau usée urbaine épurée, pouvant être utilisées pour l'irrigation, pour des usages industriels, pour l'alimentation d'étang.

Actuellement, l'eau usée traitée provenant des stations d'épuration existantes, lorsque celles-ci sont opérationnelles, est rejetée dans les oueds, mais dans les régions où les besoins en eau ne sont pas satisfaits, il serait donc illogique de continuer de déverser l'eau traitée dans les oueds (**Remini, 2007**).

La fin du XXème et le début de XXIème siècles ont vu l'apparition d'un nouveau genre de matériaux : les nanoparticules, des particules de dimensions inférieures à 100 nm, (**Ophélie, 2008**), Leur utilisation est en plusieurs domaines tels que les traitements des eaux.

Les processus qui régissent le transport et le déplacement des nanoparticules dans l'eau et les eaux usées ont été étudiés dans les réseaux de collecte et les usines de traitement d'eaux résiduaires, leur devenir n'est pas encore connu. L'eau usée peut être traitée selon ses caractéristiques par de nombreux processus physiques, chimiques et biologiques. La taille nanométrique des particules est susceptible d'être modifiée par des processus de sorption (par exemple dans les traitements primaires) et des réactions chimiques. La photochimie des nanoparticules est étudiée en vue de son application éventuelle dans le traitement de l'eau.

La caractéristique d'hyperréactivité des nanoparticules est à l'origine de l'intérêt que ces structures génèrent actuellement. Il est important de rappeler que la réactivité caractérise l'affinité d'un adsorbât pour un adsorbant. La réactivité peut être la même par unité de surface pour des matériaux de surfaces spécifiques très différentes (**AFSSA, 2008**).

L'objectif de notre travail vise à étudier :

- L'évaluation de la qualité bactériologique des boues résiduaires de la STEP (Guelma) pour un but de recherche des microorganismes qui sont susceptibles d'être pathogène (*Levures, Vibrios, Staphylocoques, Pseudomonas et Salmonelles*) et ceux qui sont indicateur de contamination fécale (*Coliformes et Streptocoques fécaux, Anaérobies réducteur de sulfure*).

- Évaluation de l'effet antimicrobien des nanoparticules d'argent sur les microorganismes dans les boues.

Ainsi, notre étude se structure partie bibliographique qui présente les différents traitements des eaux usées et des boues, et une partie expérimentale qui présente les différentes méthodes d'analyses microbiologiques utilisées et les principaux résultats obtenus.

Partie 7 : Etude bibliographique

Chapitre I

Traitement des eaux usées

et des boues liquide

Chapitre I : traitement des eaux usées et des boues

I. Traitement des eaux usées

1. Définition des eaux usées

Les eaux usées (ou eaux polluées) sont des eaux qui ont été altérées par l'activité humaine [1]. Elles sont définies comme étant des eaux ayant été utilisées pour des usages domestiques, industriels ou même agricole, constituant donc un effluent pollué et qui sont rejetées dans un émissaire d'égout (Djeddi, 2006).

Il peut ainsi s'agir d'eaux polluées provenant d'usines ou d'eau de ruissellement provenant d'un parc de stationnement (Fig. 1) [1].



Figure 1: les eaux usées [2].

2. Caractéristiques des eaux usées

Les principaux paramètres physicochimiques analysés au cours de la partie expérimentale ainsi que les paramètres bactériologiques les plus rencontrés dans les eaux usées sont :

2.1. La matière en suspension (MES)

La pollution particulaire est due à la présence de particules de grande taille, supérieure à $10\mu\text{m}$, en suspension dans l'eau, et que l'on peut assimiler aux matières en suspension

(MES). En fonction de la taille des particules, on distingue les matières grossières ou décantables (diamètre supérieur à 100 μm) et les matières en suspension. On peut également prendre en compte une partie des matières colloïdales, de dimension inférieure, qui constitue la limite entre la phase solide et la phase dissoute (entre 1 et 10-2 μm) (**Rejsek, 2002**).

2.2. La Demande Chimique en Oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène (DCO) est la quantité d'oxygène consommée par les matières existantes dans l'eau et oxydables dans des conditions opératoires définies. En fait la mesure correspond à une estimation des matières oxydables présentes dans l'eau quelque soit leur origines organique ou minérale.

La DCO est la concentration, exprimée en mg/l, d'oxygène équivalente à la quantité de dichromates consommée par les matières dissoutes et en suspension lorsqu'on traite un échantillon d'eau avec cet oxydant dans des conditions définies par la norme (**Rejsek, 2002**).

2.3. La Demande Biochimique en Oxygène (DBO₅)

Pratiquement, la demande biochimique en oxygène devrait permettre d'apprécier la charge du milieu considéré en substances putrescibles, son pouvoir auto-épurateur et d'en déduire la charge maximale acceptable, principalement au niveau des traitements primaires des stations d'épuration.

La demande biochimique en oxygène après 5 jours (DBO₅) d'un échantillon est la quantité d'oxygène consommé par les microorganismes aérobies présents dans cet échantillon pour l'oxydation biochimique des composés organiques et/ou inorganiques (**Rejsek, 2002; Rodier, 2005**).

2.4. Micropolluants organiques et non organiques

Les micropolluants organiques sont les hydrocarbures polycycliques aromatiques, les chlorophénols, les phtalates..., et les micropolluants non organiques (les Eléments traces) sont le manganèse, l'aluminium, le chrome, l'arsenic, le sélénium (**Djeddi, 2007**).

2.5. Nutriments

Les eaux usées contiennent divers nutriments utilisables par les végétaux comme l'azote, le phosphore et le potassium ainsi que les matières organiques présentes dans ces eaux peuvent aussi améliorer la structure du sol et sa fertilité. Un certain nombre d'études ont

démontré un impact positif des eaux usées sur la productivité des cultures résultant de leur teneur en nutriments et en matières organiques (**Djeddi, 2007**).

2.6. Les micro-organismes

Les stations d'épuration reçoivent divers influents tels que des eaux résiduelles industrielles répondant aux normes de rejet en égouts ou les eaux domestiques usées provenant des cuisines et des sanitaires. C'est dans ces eaux de sanitaires que se concentrent la plupart des microorganismes. Ils proviennent principalement des matières fécales.

Les micro-organismes pathogènes comprennent principalement, par ordre croissant de taille : les virus, les bactéries, les protozoaires et les helminthes. Ils ont des effets divers sur la Santé. Ils sont la cause d'infections bénignes comme la gastro-entérite mais aussi de maladies mortelles comme le choléra (**Djeddi, 2007**).

3. Type des eaux usées

Les eaux usées sont classés en divers types :

3.1. Les eaux de ruissellement

Les eaux pluviales peuvent constituer une source de pollution importante des cours d'eau, notamment pendant les périodes orageuses. L'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air (fumées industrielles), puis en ruisselant, elle entraîne des résidus déposés sur les toits et les chaussées des villes (huiles de vidange, carburants, résidus de pneus et métaux lourds...) (**Abessa et Tabet, 2014**).

3.2. Les eaux usées domestiques

Les eaux usées domestiques comprennent :

- Les eaux ménagères (eaux de toilette, de Lessive, de cuisine).
- Les eaux vannes (urines et matières fécales), dans le système dit « tout à l'égout ».

Les eaux usées domestiques contiennent des matières minérales et des matières organiques : Les matières minérales (chlorures, phosphates, sulfates, etc.) et les matières organiques constituées de composés ternaires, tels que les sucres et les graisses (formés de carbone, oxygène et hydrogène, mais aussi d'azote et, dans certains cas, d'autres corps tels que soufre, phosphore, fer, etc.) (**Djeddi, 2006**).

3.3. Les eaux usées agricoles

Elles proviennent des activités agricoles telles que l'élevage, les cultures maraichères et céréalières, l'aquaculture, la pêche, etc. dans ce cas, le ruissellement des eaux entraîne l'azote, le phosphore et les résidus de pesticides (**léon, 2012**).

3.4. Les eaux usées industrielles

Elles ont très différente des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus de matières organiques, azotées ou phosphorées, elles peuvent également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques et des hydrocarbures. en raison de leur spécificité, certaines d'entre elles doivent faire l'objet d'un prétraitement de la part des industriels avant d'être rejetée dans les réseaux de collecte. Elles ne sont mêlées aux eaux domestiques que lorsqu'elles ne présentent plus de danger pour les réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des stations d'épuration ou du milieu récepteur (**Belahmadi, 2011**).

Les rejets industriels peuvent suivre trois voies d'assainissement :

- Ils sont directement rejetés dans le réseau domestique ;
- Ils sont prétraités puis rejetés dans le réseau domestique ;
- Ils sont entièrement traités sur place et rejetés dans le milieu naturel (**Djeddi, 2006**).

4. Les filières de traitements des eaux usées

4.1. Le prétraitement

Destiné à préparer l'effluent au traitement biologique ultérieur, le prétraitement comporte une succession d'opération physique ou mécanique destinées à séparer les eaux usées des matières volumineuses, en suspension ou flottantes, qu'elles véhiculent (**Altmeyer, 1990**).

4.1.1. Le dégrillage

Premier poste de traitement (situé à l'arrivée des eaux usées dans la station), il a pour but de retenir les déchets solides et volumineux (papiers, feuilles, objets divers...), charriés par l'eau brute, insensibles au traitement biologique et nuisibles pour les installations situées en aval (pompes, conduites) (**Fig. 2**) (**Altmeyer, 1990**).



Figure 2: Mécanisme du dégrillage [3].

4.1.2. Le Dessablage

Cette opération permet séparer par sédimentation les eaux usées des graviers, sable et autre particule minérale plus ou moins fines susceptible d'endommager les installations en aval.

Le dessablage ne concerne que les particules de diamètre supérieur ou égal à 200 micromètres. Les particules de diamètre inférieure seront « récupérées » par décantation ultérieure (Altmeyer, 1990).

4.1.3. Le dégraissage-déshuilage

Pour éviter l'encrassement de la station par des corps gras. Effectuée dans le même bassin que l'étape de dessablage, la récupération des graisses et huiles se fait en surface. Les composés collectés seront alors incinérés (cas du traitement d'un effluent urbain) ou recyclés pour la fabrication de savons ou détergents (cas de certains effluents industriels) en fonction de leur qualité (Fig. 3) (Cindy, 2007).



Figure 3: Mécanisme du dégrillage et dégraissage [4].

4.1.4. La neutralisation

Elle consiste à ajuster le pH entre 7 et 8, à l'aide de réactifs appropriés (acides, bases...) (Altmeyer, 1990).

4.2. Le traitement primaire (décantation - flottation)

Si les prétraitements visent à l'élimination des matières solides, des sables, et des matières minérales qu'on peut récupérer par surnage, le traitement primaire élimine plus de la moitié des matières en suspension et constitue une pré-épuration non négligeable quoique insuffisante pour garantir la qualité du rejet en milieu naturel. Il fait appel à différents procédés physiques et / ou chimiques. Les matières décantables se déposent au fond ou flottent à la surface par différence de densité ou après adjonction de produits agglomérant les matières et accélérant leur flottation ou leur sédimentation (Abessa et Tabet, 2014).

4.2.1. La décantation primaire classique

Elle consiste en une séparation des éléments liquides et des éléments solides sous l'effet de la pesanteur. Les matières solides se déposent au fond d'un ouvrage appelé "décanteur" pour former les "boues primaires". Ces dernières sont récupérées au moyen d'un système de raclage. Ce traitement élimine 50 à 55 % des matières en suspension (Fig. 4) (Abessa et Tabet, 2014).



Figure 4: Le bassin circulaire de la décantation primaire (Azzouzi, 2010).

4.2.2. La flottation (processus physique)

Par opposition à la décantation, la flottation est un procédé de séparation solide-liquide ou liquide-liquide qui s'applique à des particules dont la masse volumique réelle ou apparente (flottation assistée) est inférieure à celle du liquide qui les contient (Cindy, 2007).

4.2.3. L'utilisation d'un décanteur lamellaire

Permet d'accroître le rendement de la décantation. Ce type d'ouvrage comporte des lamelles parallèles inclinées, ce qui multiplie la surface de décantation et accélère donc le processus de dépôt des particules (Abessa et Tabet, 2014).

Une décantation lamellaire permet d'éliminer plus de 70 % des matières en suspension. La décantation est encore plus performante lorsqu'elle s'accompagne d'une floculation préalable (Abessa et Tabet, 2014).

4.2.4. La coagulation-floculation

Est encore plus performante, cette technique comporte une première phase d'adjonction d'un réactif tel que (sulfate d'aluminium) avec un aide coagulant (silice activé SiO_2) ce qui provoque l'agglomération des particules en suspension, puis une accélération de leur chute au fond de l'ouvrage, les amas de solides ainsi obtenus sont appelées « floccs » (Fig.5) (Aouadi, 2007).

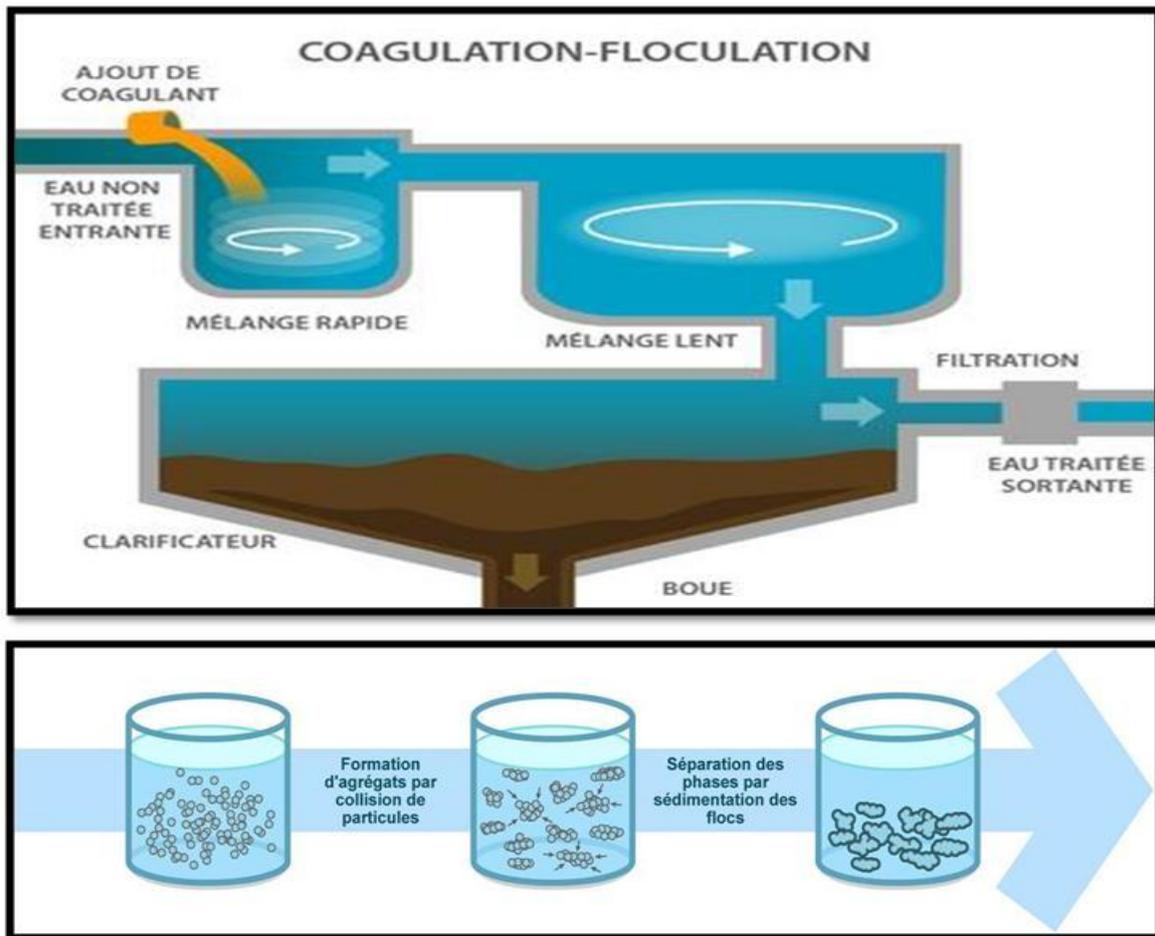


Figure 5: Schéma d'un procédé de coagulation- floculation (Telli., 2013).

4.3. Traitements biologiques : traitements secondaires

Ces traitements permettent d'éliminer les polluants dissous. Pour cela on utilise des populations de micro-organismes capables de les consommer. Le principe général est de favoriser la croissance de communautés de bactéries aérobies, c'est-à-dire qui prélève l' O_2 pour leur métabolisme (Tableau 1) (Abessa et Tabet, 2014). On en distingue différents types :

4.3.1. Le lit bactérien ou granulaire (culture fixe)

Consiste à une ruissellement de l'eau à traiter sur le support, ne nécessite pas de clarificateur en ce qui concerne le lit granulaire, coûts de fonctionnement faibles, rendement moyen pour un lit bactérien et bon pour un lit granulaire, chocs toxiques supportés, fonctionnement stable, risque de colmatage (Fig. 6) (Cindy, 2007).

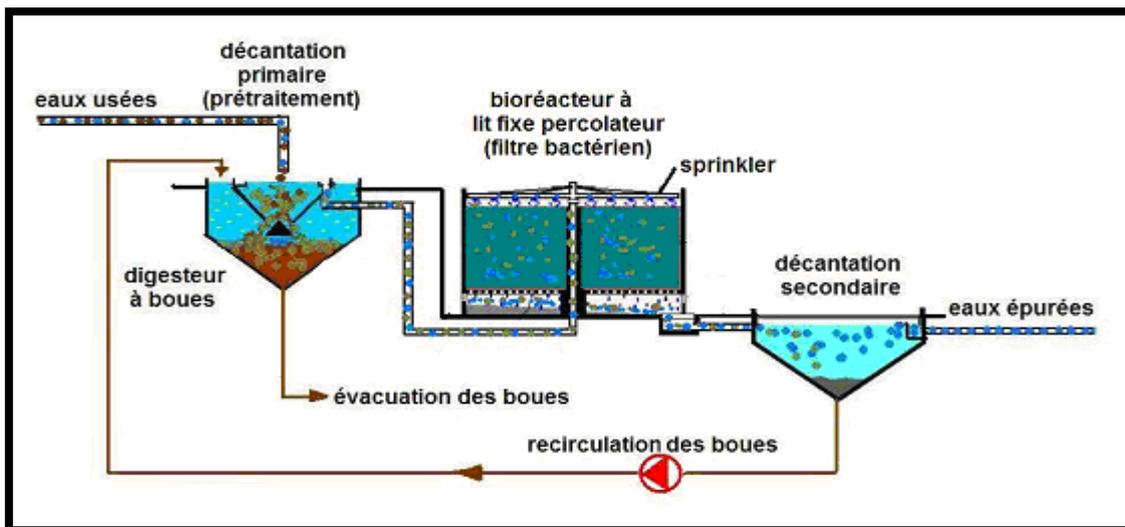


Figure 6: Schéma d'un Procédé Lit bactérien (Telli, 2013).

4.3.2. Les bio-disques (culture fixe)

Biomasse fixée sur des disques tournants au sein du mélange à traiter, coûts de fonctionnement faibles, efficace à faible charge uniquement, sensible aux conditions climatiques (lessivage du bio-film par la pluie) (Fig. 7) (Cindy, 2007).

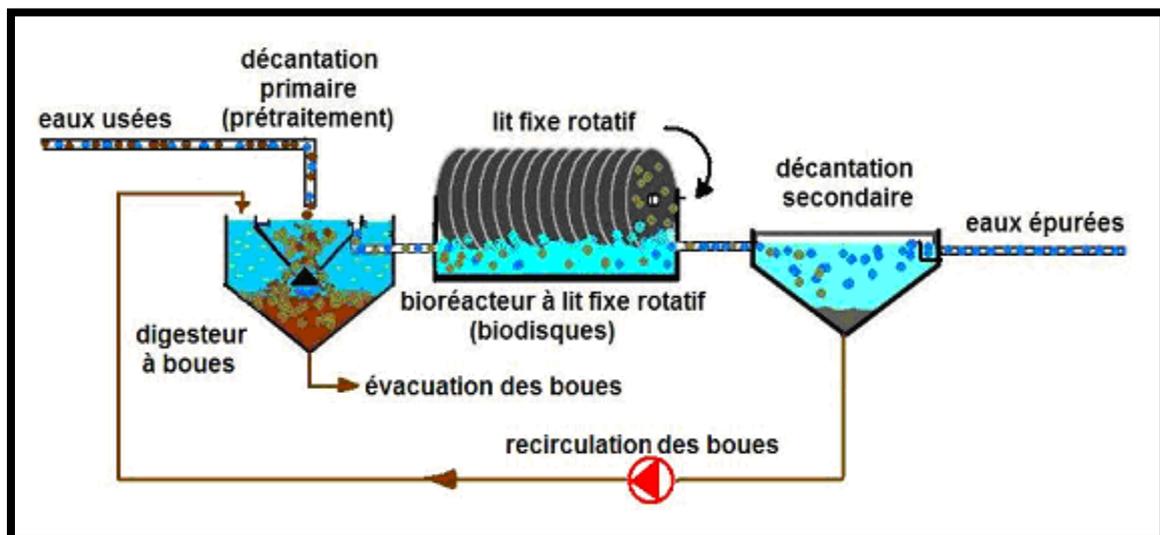


Figure 7: Schéma d'un procédé Disques biologiques (Telli, 2013).

4.3.3 Les boues activées (culture libre)

Traitement en deux phases, contact de la biomasse et de l'eau usée dans un réacteur puis séparation des solides de la phase liquide épurée par décantation. Le processus d'épuration par boues activées est le plus répandu (60 % des unités de dépollution en France).

Son développement est dû à ses excellentes performances de dépollution (rendement supérieur à 95 %) par rapport aux autres procédés existants. En contrepartie, suivant le type d'effluents à traiter, ce procédé peut être difficile à maîtriser notamment pour le traitement de l'azote et du phosphore ou en cas de variations importantes des flux à traiter (**Fig. 8**) (**Cindy, 2007**).

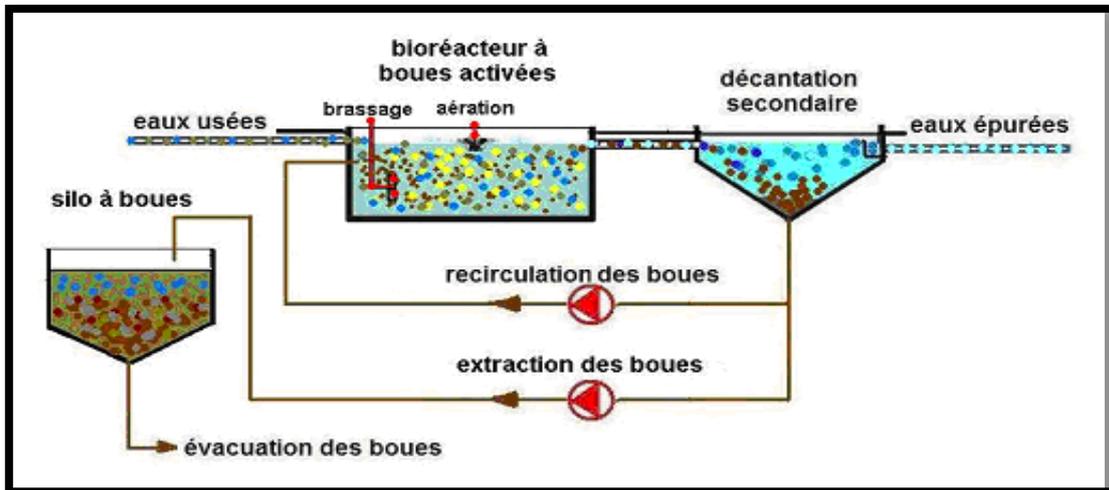


Figure 8: Schéma d'un procédé boues activées (Telli, 2013).

4.3.4. Le lagunage (culture libre)

Le lagunage est un procédé d'épuration qui consiste à faire circuler des effluents dans une série de bassins pendant un temps suffisamment long pour réaliser les processus naturels de l'autoépuration. Il est pratiqué dans les régions très ensoleillées, dans des bassins de faible profondeur. Le principe général consiste à recréer, dans des bassins, des chaînes alimentaires aquatiques. Le rayonnement solaire est la source d'énergie qui permet la production de matières vivantes par les chaînes trophiques. Les substances nutritives sont apportées par l'effluent alors que les végétaux sont les producteurs du système en matière consommables et en oxygène (**Hatem, 2008**).

Les bactéries assurent la part prépondérante de l'épuration et la microfaune contribue à l'éclaircissement du milieu par ingestion directe des populations algales et des bactéries (**Hatem, 2008**).

L'inconvénient majeur de ce type de procédé est le dépôt qui se produit à la longue et qui reste en phase anaérobie (**Hatem, 2008**).

Ce traitement demande des surfaces importantes avec des temps de séjour de l'ordre de 30 à 60 jours et une profondeur des bassins de 0.5 à 1.2 m (**Fig. 9**) (**Hatem, 2008**).

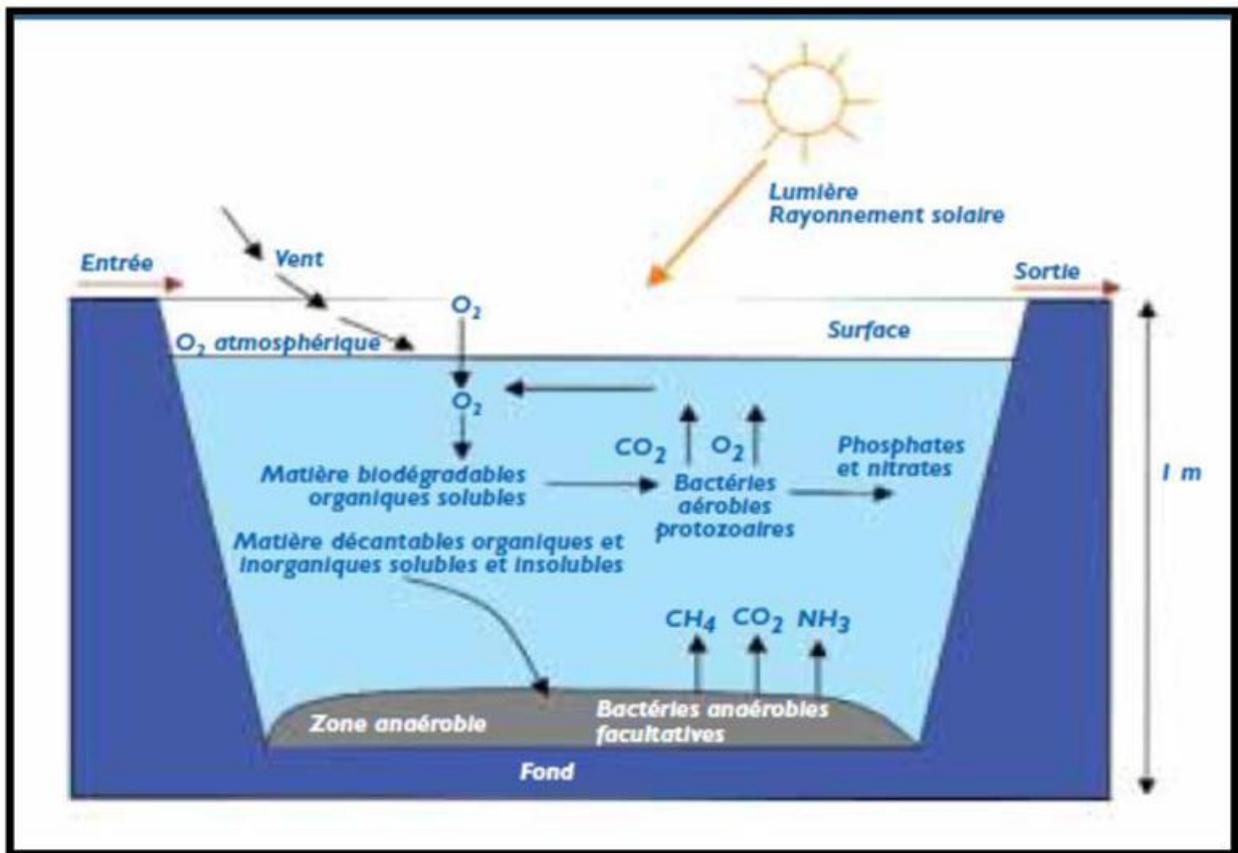


Figure 9: Le lagunage (Abessa et Tabet, 2014).

➤ Les différents types de lagunage

• Le lagunage naturel

D'une profondeur de 1.2 à 1.5 m au maximum et de 0.8 m au minimum (afin d'éviter le développement de macrophytes), avec un temps de séjour de l'ordre du mois (Hatem, 2008).

• Le lagunage aéré

En fournissant l'oxygène par un moyen mécanique, on réduit les volumes nécessaires et on peut accroître la profondeur de la lagune. La concentration en bactéries est plus importante qu'en lagunage naturel (Hatem, 2008).

• Le lagunage anaérobie

Il n'est applicable que sur des effluents très concentrés et, le plus souvent comme prétraitement avant un étage aérobie. La couverture de ces lagunes et le traitement des gaz produits sont nécessaires vu les risques de nuisances élevés (odeurs) (Hatem, 2008).

Tableau 1: Avantages et inconvénients des différentes filières de traitement des eaux usées
(Abessa et Tabet, 2014).

Filière	Avantages	Inconvénients
Lit bactérien	<ul style="list-style-type: none"> - faible consommation d'énergie. -fonctionnement simple demandant moins d'entretien et de contrôle que la technique des boues activées. - bonne décantabilité des boues. -plus faible sensibilité aux variations de charge et aux toxiques que les boues activées. -généralement adaptés pour les petites collectivités. 	<ul style="list-style-type: none"> -performances généralement plus faibles qu'une technique par boues activées. Cela tient en grande partie aux pratiques anciennes de conception. -Un dimensionnement plus réaliste doit permettre d'atteindre des qualités d'eau traitée satisfaisantes. -coûts d'investissement assez élevés (peuvent être supérieurs d'environ 20 % par rapport à une boue activée). -nécessité de prétraitements efficaces.
Boues activées	<ul style="list-style-type: none"> -bonne élimination de l'ensemble des paramètres de pollution (MES, DCO, DBO₅, N). -adapté pour la protection de milieux récepteurs sensibles. -boues légèrement stabilisées. 	<ul style="list-style-type: none"> -coûts d'investissement assez importants. -consommation énergétique importante -nécessité de personnel qualifié et d'une surveillance régulière. -sensibilité aux surcharges hydrauliques.
Lagunage	<ul style="list-style-type: none"> -Bonne élimination de la pollution bactériologique. -Efficace sur des effluents peu concentrés. -Bonne réactivité à des variations de charges polluantes. 	<ul style="list-style-type: none"> -Performances épuratrices faibles. -Sensible aux effluents concentrés. -Besoin en surface important. -Entretien des berges des bassins.

4.4. Traitement tertiaire

Des systèmes de filtration, de désinfection chimique ou de traitement par UV peuvent être installés, afin de diminuer la concentration des micro-organismes dans l'eau rejetée dans le milieu naturel.

Le procédé de filtration, qui peut entraîner des projections et des bio-aérosols lors des phases de lavage des filtres, sera préférentiellement capoté et ventilé s'il est installé dans un local (**Guide, 2013**).

3.4.1. La désinfection par chloration

Les produits chlorés (eau de javel, chlore) ont un grand effet bactéricide grâce à leur pouvoir oxydant qui permet la destruction des germes pathogène.

La désinfection à l'eau de javel est simple à mettre en œuvre, livrée sous forme liquide, elle est stockée dans une cuve avant d'être requise par une pompe doseuse pour être injectée dans le bassin de contact ou transite l'eau à désinfecter (**Aouadi, 2007**).

4.4.2. La désodorisation

La désodorisation au sein des stations d'épuration est soit chimique ou biologique. Le traitement chimique est la technique la plus utilisée, où les gazes malodorantes sont captées puis envoyées dans des tours de lavage ou un liquide désodorisant est pulvérisé, ces lavages peuvent être comportés de la soude pour neutraliser les mauvaises odeurs. Le traitement biologique qui consiste à faire passer l'air à travers d'un matériau poreux sur lequel on développe un bio-film de façon analogue aux bio-filtres utilisés pour le traitement de l'eau (**Aouadi, 2007**).

4.4.3. La déphosphoration

L'élimination du phosphore est une activité importante du traitement tertiaire. En effet, dans l'eau le phosphore se retrouve naturellement à l'état minéral à faible concentration (0.01mg/l), mais l'utilisation « massive » de phosphates dans la fabrication des produits d'entretien et agriculture pose des problèmes d'équilibre au milieu aquatique. Si les phosphates ne sont pas directement nocifs, leur action est cependant néfaste par la prolifération des algues qu'ils génèrent à la surface de l'eau limitant considérablement les échanges avec l'air et l'énergie solaire, il contribue ainsi à l'eutrophisation des eaux (**Aouadi, 2007**).

II. Traitement des boues

1. Définition des boues

Les boues sont « les sédiments résiduels des installations de traitement ou de prétraitement biologique, physique ou physico-chimique des eaux usées ». De plus, ce décret assimile des boues :

- Les matières de vidange des dispositifs d'assainissement non collectif ;
- Les matières de curage des ouvrages de collecte des eaux usées à condition qu'elles aient subi un traitement destiné à en éliminer les graisses et les sables (l'épandage des graisses et des sables étant interdit).
- Enfin, le décret précise que les boues ont statut de déchet au sens de la loi du 15 juillet 1975 la personne qui les produit est donc responsable de leur élimination dans des conditions telles que les effets nocifs sur l'environnement soient évités (**Fig. 10**) (**ADEME, 2007**).



Figure 10: les boues [5].

2. Caractéristiques des boues

2.1. Matière sèche MS et siccité S

C'est le paramètre principal de la définition de filière et surtout un des plus faciles à mesurer. MS est exprimée en g/L. Rapporté à la masse totale de boue, on l'exprimera en fraction massique S qui correspond à la siccité. Il permet de connaître la quantité de boue à traiter, quel que soit son niveau de concentration dans la filière de traitement (**Guerfi, 2012**).

2.2. Matières en suspension MES

Si les MS sont faciles à déterminer sur les phases concentrées, il n'en va pas de même sur les phases clarifiées où la procédure de mesure des MES par filtration sur membrane est plus appropriée.

Afin d'écrire un bilan matière rigoureux soit en MS, soit en MES sur une opération de séparation de phase (qui ne sépare que les MES), on reliera les deux paramètres par la relation expérimentale suivante : $MES = MS - [\text{substances organiques et minérales dissoutes}]$ (Guerfi, 2012).

2.3. Fraction volatile FV (en % des MS)

C'est le rapport des matières volatiles MV (en g/L) sur les matières sèches MS (en g/L). Elle donne une précieuse indication sur le degré de stabilisation de la boue, et son aptitude à divers traitements (déshydratation, incinération...) (Guerfi, 2012).

2.4. Indice de boue SVI (Sludge Volume Index)

Il caractérise l'aptitude à la décantation, et donc ultérieurement à l'épaississement puis à la déshydratation d'une boue issue d'un traitement biologique. Il est à relier indirectement aux MS et MV (Guerfi, 2012).

2.5. Matières organiques

La connaissance de la composition élémentaire de la boue en terme de C, H, O, N, S permet de déterminer l'aptitude d'une boue à être dégradée biologiquement (digestion anaérobie avec production de biogaz) ou thermiquement (incinération) par écriture de la stœchiométrie de dégradation. Elle est exprimée par rapport aux MV, voire par rapport aux MV dégradables uniquement si l'on s'intéresse à la stabilisation biologique. $C_5H_7O_2N$ est souvent pris comme « formule brute » d'une boue biologique (Guerfi, 2012).

2.6. Pouvoir calorifique inférieur (PCI)

Son importance est primordiale en incinération. Généralement exprimé par rapport aux MV, il est à relier au C, H, O, N, S par écriture de la stœchiométrie de combustion. Différentes approches (formule de Dulong, théorie des électrons disponibles, etc.) permettent de le calculer approximativement, à défaut de le mesurer expérimentalement à la bombe calorimétrique (Guerfi, 2012).

2.7. Les Micropolluants

Ils doivent être caractérisés en cas d'épandage agricole comme en cas d'incinération, car ils peuvent alors se retrouver dans les fumées. Les législations se sont longtemps tenues aux seuls micropolluants minéraux en limitant les rejets des métaux lourds suivants : plomb, chrome, cuivre, manganèse, nickel, arsenic, cadmium et mercure (**Guerfi, 2012**).

2.8. Les microorganismes des boues de station d'épuration

Les traitements usuels appliqués aux BSE permettent un abattement important mais non total de la charge microbienne (**Tidiane, 2011**).

. Les microorganismes utiles

Certaines bactéries des boues par le processus de nitrification qui comporte principalement deux étapes. La première étape permet la conversion de l'ammonium en nitrite (NO_2^-) par le groupe des *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus* et *Nitrosolobus* ; le nitrite est ensuite oxydé en nitrate par le groupe des *Nitrobacters* et *Nitrococcus*. L'azote des nitrates est aisément utilisé par les plantes, mais se perd aussi rapidement par le lessivage des nitrates solubles et la dénitrification n'est pas toujours un bienfait (**Tidiane, 2011**).

. Les microorganismes pathogènes des boues d'épuration

La teneur en microorganismes pathogènes dans les boues d'épuration varie en fonction :

- De la nature des rejets recueillis par le réseau (domestiques, industriels, ...etc)
- De l'état sanitaire de la population raccordée,
- Des traitements effectués sur les eaux et les boues ...etc.

La charge en agents pathogènes dépend des concentrations initiales dans les eaux usées, de la survie, de croissance pendant les traitements, de l'association des agents avec la boue, du temps de séjour des boues et de la technique d'extraction des pathogènes des boues utilisées (**Tableau 2**) (**Tidiane, 2011**).

Tableau 2 : Les différents germes pathogènes dans les boues (Altmeyer, 1990).

<p>Bactérie</p> <p><i>Klebsiellae pneumoniae</i></p> <p><i>Echerichia coli</i></p> <p><i>Salmonella spp</i> (dont typhi, para A et para B)</p> <p><i>Shigella</i></p> <p><i>Vibrio cholerae</i></p> <p><i>Mycobacterium tuberculosis</i></p> <p><i>Bacillus anthracis</i></p> <p><i>Actinomyces</i></p> <p><i>Leptospira interrogans</i> (<i>Icterohaemorrhagiae</i>)</p> <p><i>Legionella spp</i></p> <p><i>Yersinia enterocolitica</i></p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p><i>Clostridium tetani</i></p> <p><i>Clostridium perfringens</i></p> <p><i>Clostridium botulinum</i></p> <p><i>Listeria monocytogenes</i></p> <p><i>Campylobacter spp</i></p>	<p>Champignons</p> <p><i>Candida albicans</i></p> <p><i>Cryptococcus neoformans</i></p> <p><i>Aspergillus spp</i></p> <p><i>Trichophyton spp</i></p> <p><i>Epidermophyton spp</i></p>
<p>Virus</p> <p><i>Influenzaevirus</i></p> <p>Enterovirus:</p> <p><i>Coxsackie A et B</i></p> <p><i>Echovirus</i></p> <p><i>Poliovirus</i></p> <p><i>Virus de l'épatit A</i></p> <p><i>Rotavirus</i></p> <p><i>Adénovirus</i></p> <p><i>Réovirus</i></p> <p><i>Parvovirus</i> (agent de norwalk, de Denver, d'Hawaï)</p> <p><i>Coronavirus</i></p>	<p>Parasites</p> <p>Protozoaires:</p> <p><i>Entamoeba histolytica</i></p> <p><i>Giardia lamblia</i></p> <p><i>Batantidium coli</i></p> <p>Helminthes:</p> <p><i>Ascaris lumbricoides</i></p> <p><i>Ankylostoma duodenale</i></p> <p><i>Anguillula intestinalis</i></p> <p><i>Toxocara canis</i></p> <p><i>Toxocara catis</i></p> <p><i>Trichiuris trichiura</i></p> <p><i>Fasciola hepatica</i> (et autre douves).</p> <p><i>Taenia saginata</i></p> <p><i>Taenia solium</i></p> <p><i>Hymenolepis nana</i></p> <p><i>Toxoplasma gondii</i></p> <p><i>Echinococcus ssp</i></p>

3. Les différents types de boues

3.1. Selon l'état physique

Un des principaux paramètres physique des boues est la siccité qui désigné quatre grands types de boues sont issus des stations municipales :

3.1.1. Les boues liquides

Sont issus de l'épaississement des boues biologique par voie gravitaire (siccité 2-3% MS) ou mécanique (siccité 5-7% MS). On les trouve dans les petites stations rurales et périurbaines. Elles se stockent, se manipulent et s'épandent comme des lisiers (**Jean et al., 2001**).

3.1.2. Les boues pâteuses

Proviennent des boues liquides déshydratées mécaniquement (siccité 16-20% MS). Dans certains cas, elles subissent un conditionnement supplémentaire à la chaux qui accroît la siccité du produit brut (25% MS). Ces boues pâteuses sont produites dans des stations de taille moyenne. Elles sont difficiles à stocker et surtout à épandre avec régularité. En outre, elles présentent souvent de graves problèmes d'odeurs, sauf dans le cas d'un traitement complémentaire à la chaux (**Jean et al., 2001**).

3.1.3. Les boues chaulées

Résultent soit de boues pâteuses traitées à la chaux (siccité 30% MS), soit de boues liquides épaissies traitées à la chaux et déshydratées mécaniquement (siccité 40% MS). Elles sont produites par des stations de taille moyenne ou grande taille. Les boues solides chaulées se stockent, se manipulent et s'épandent facilement. Par ailleurs, elles présentent beaucoup moins de problèmes d'odeurs que les boues liquides et les boues pâteuses non chaulées (**Jean et al., 2001**).

3.1.4. Les boues solides compostées

Sont issues du mélange de boues pâteuses (45% MS) avec un support ligno cellulosique structurant (déchets d'espaces verts, copeaux...). Les boues solides compostées sont plus faciles à stocker que les boues solides chaulées. Elles s'épandent aussi facilement et sont pratiquement sans odeur (**Jean et al., 2001**).

3.2. Selon l'origine

On pourra distinguer les types de boues suivantes :

3.2.1. Les boues physico-chimiques

Ce types des boues renferme la quasi-totalité de la pollution particulaire et colloïdale enlevée à l'eau (dans les décanteurs placés en aval), ainsi que les quantités de réactifs ajoutés qui se retrouvent dans les boues sous forme d'hydroxydes métallique ou de précipités minéraux (carbonate, phosphate, etc.) (**Koller, 2009**).

3.2.2. Les boues de l'épuration biologique

Ces boues résultent de l'activité vitale des micro-organismes. Il faut noter que ces boues biologiques auront une composition différente en fonction de la nature du substrat dégradé, de la charge de fonctionnement du réacteur biologique, du traitement de stabilisation (aérobie ou anaérobie) éventuellement pratiqué (**Koller, 2009**).

3.2.3. Les boues de fermentation (les boues de digestion)

Les boues fraîches sont soumises à la fermentation méthanique dans les digesteurs. Le processus de digestion réduit leur volume à environ deux tiers de la teneur initiale en matières solides ; elles contiennent, selon leur degré d'épaississement, 90 à 96 % d'humidité (**Koller, 2009**).

3.2.4. Les boues tertiaires

Les boues tertiaires sont le plus souvent issues d'un traitement physico-chimique après un traitement biologique (d'où la notion de traitement tertiaire). Ce traitement tertiaire a pour principal objectif un rôle d'affinage du traitement. Il s'avère obligatoire derrière une boue activée lorsque les niveaux de rejets demandés sont très contraignants comme une teneur en MES inférieur à 20 mg MES/l, une teneur en phosphore inférieure à 1 mg Pt/l et une concentration en DCO inférieure à 60 mg/l. Elles sont le plus souvent obtenues par l'ajout de réactifs chimiques et elles sont aussi le plus souvent plus difficiles à déshydrater (**Canler et Perret, 2013**).

3.2.4. Les boues mixtes

C'est le mélange des boues biologiques et des boues primaires. Elles existent au niveau des STEP (station de traitement des eaux polluées) dotées d'une filière de traitement complète (Guerfi, 2012).

4. Filière de traitement interne à la station d'épuration

Les boues résiduaires en excès sont, au moment de leur extraction du système d'épuration des eaux, un produit :

- Peu concentré donc occupant un grand volume.
- Fermentescible du fait de la forte teneur en matière organique.

Ces deux caractéristiques sont gênantes quelle que soit la destination des boues et imposent la mise en place d'une filière de traitement (tableau 3) (Karoune, 2008).

Tableau 3: les opérations de traitement des boues et leurs objectifs (Karoune, 2008).

Opération	But
Stabilisation	Limiter les évolutions ultérieures s'accompagnant de nuisance.
Conditionnement	Modifier les caractéristiques de la boue afin de faciliter la séparation des phases solides et liquides.
Déshydratation	Augmenter la siccité afin de rendre le produit solide ou pâteux.

4.1. L'épaississement

Cette étape permet de concentrer les boues, et donc de réduire leur volume. Selon la nature des boues, cette opération se fait généralement par décantation gravitaire (statique) ou par flottation. Elle peut aussi être réalisée par égouttage ou centrifugation. Les boues sont épaissies, et l'eau retirée est renvoyée en tête de station, afin d'éliminer la pollution dissoute dans la fraction soluble. A ce stade, la siccité obtenue (teneur en matière sèche) est de l'ordre de 1 à 10%, selon les installations (Chibani, 2010).

4.2. La stabilisation

Elle permet d'éliminer 20 à 50% de la matière organique. Elle peut se faire :

4.2.1. Par digestion anaérobie

Celle-ci a lieu dans le digesteur où les matières organiques subissent une transformation en dioxyde de carbone et méthane avec également production d'ammoniac. Les boues ainsi digérées sont récupérées dans la partie la plus déprime du digesteur, tandis que les gaz peuvent être utilisés au conditionnement thermique des boues (Altmyer, 1990).

4.2.2. Par digestion aérobie

L'apport prolongé d'oxygène stimule le développement des microorganismes jusqu'à épuisement du milieu. Pour cela, les boues séjournent dans des bassins dits de stabilisation. « Elle consiste, par une aération prolongée, à stimuler ou à entretenir le développement des microorganismes aérobies jusqu'à dépasser la période de synthèse des cellules et réaliser leur propre auto-oxydation » (Altmyer, 1990).

4.2.3. Par stabilisation chimique

Elle repose sur l'utilisation d'agents chimiques bactériostatiques. En raison de son faible coût. Le réactif le plus souvent utilisé est la chaux (Altmyer, 1990).

4.2.4. Par pasteurisation

Elle a pour but d'inactiver totalement les agents pathogènes contenus dans les boues (par exemple, en vue de l'épandage des boues sur des pâtures). Pour cela, la suspension boueuse est maintenue à 70°C pendant 30min (Altmyer, 1990).

4.3. Conditionnement

C'est impératif pour rendre l'opération de déshydratation mécanique économiquement réalisable. Ce conditionnement a pour objet de réduire entre autre la stabilité colloïdale des espèces particulières, de favoriser la libération d'eau ou en réduire l'énergie de liaison avec les espèces particulières. Dans le cas où le conditionnement n'a pour seul objet que de faciliter la déshydratation des boues (sans stabilisation sanitaire ou biologique), seule la voie chimique est pratiquée.

Ce conditionnement chimique se fait par apport de coagulants minéraux (sels de Fer ou d'Aluminium) et/ou de poly-électrolytes généralement de synthèse. Il se fait conventionnellement dans des cuves où le mélange est parfaitement contrôlé pour favoriser le contact et la restructuration des espèces en suspension. Ce contact peut nécessiter une

régulation de pH. Leurs inconvénients sont leur coût et leur devenir dans le cas d'épandage des boues pour des composés qui peuvent présenter une biodégradabilité lente, voire une migration progressive vers les nappes d'eau ou les végétaux (**Fartas et al., 2015**).

4.4. La déshydratation

Cette technique a pour but l'élimination de la majeure partie de l'eau contenue dans les boues et l'obtention d'un déchet solide facilement manutentionnable et de volume réduit (**Karoune, 2008**) On a alors:

4.4.1. Séchage par des procédés mécaniques

Soit par des filtres à bandes et les centrifugeuses qui donne des boues plutôt pâteuses en raison de performances de déshydratation qui plafonnent à 18-20% de siccité pour la première famille de matériels, et 20-25% de siccité pour la seconde, soit par des filtres presses qui produisent par contre des boues de structure solide (30 à 35 % de siccité) car conjuguant un conditionnement au lait de chaux et des pressions élevées. Ces matériels sont réservés aux installations les plus importantes, car plus coûteuses et contraignantes d'emploi que les filtres à bande et les centrifugeuses (**Karoune, 2008**).

4.4.2. Séchage sur lit

Ce type de séchage se pratique à l'air libre sur des boues liquides et combine évaporation naturelle et drainage de l'eau libre à travers une couche filtrante de sable et de graviers. L'emprise au sol est de 1 m³ pour 4 à 5 habitants raccordés (**Fig. 11**).

Ce système extensif donne des boues solides à 35 - 40 % de siccité mais reste fort dépendant des conditions météorologiques. La boue sèche ainsi obtenue est pelletée, elle contient plus de 50% de matière sèche et peut être utilisée pour l'agriculture. Il arrive souvent qu'un début de végétation croisse au cours de séchage (**Karoune, 2008**).



Figure 11: Lits de séchage des boues (TELLI S, 2013).

4.4.3. Séchage thermique

Permet une élimination quasi-totale de l'eau (siccité d'environ 95 %). Les boues obtenues sont pulvérulentes ou en granulés. En raison des coûts énergétiques, ce procédé reste peu utilisé, malgré son intérêt manifeste sur la réduction des volumes à manipuler. Le séchage thermique devrait connaître un nouveau développement dans les années à venir car les autres filières de traitement des boues, dont l'incinération, se renchérissent sous l'effet des nouvelles conditions réglementaires et économiques (Karoune, 2008).

5. Élimination finale des boues et les risques liées

5.1. La valorisation agricole

Elle est confrontée à la concurrence des sous-produits de l'agriculture : les déjections animales (280 millions de tonnes) et les sous-produits des industries agroalimentaires provenant des filières de transformation animale et végétale avec au premier plan les sucreries. Aucune donnée scientifique ou écologique ne permet de privilégier la biomasse d'origine agricole par rapport aux matières organiques urbaines. Cependant, les boues urbaines qui représentent moins de 2% de l'ensemble des déchets épandus en agriculture, contre 94% pour les déjections animales³, posent de gros problèmes quant à leur utilisation en agriculture et leurs débouchés (CSAA, 2001).

5.2. L'incinération

Elle représente 15% à 20% du tonnage des boues, mais induit de forts coûts pour les exploitants des stations d'épuration. Les déchets sont brûlés dans une chambre à très haute température (de préférence à 1200°C) avec une fourniture suffisante en oxygène pour oxyder tous les matériaux organiques. Elle peut ainsi détruire 99,9 % des déchets organiques (y compris les composés organiques chlorés) si elle est convenablement utilisée (**Emilie, 2002**).

5.3. Mise en décharge

Il faut dire d'emblée que la mise en décharge est une mauvaise solution pour l'élimination des boues de STEP. Dans la mesure du possible, on lui préférera la valorisation, ou à défaut, l'incinération. Ces dernières solutions ne sont toutefois pas toujours possibles, soit que les quantités ou qualités des boues ne se prêtent pas à leur valorisation dans l'agriculture, soit que les installations d'incinération présentent des insuffisances de capacité ou des interruptions d'exploitation.

La mise en décharge des boues avec les déchets ménagers est également une pratique courante et sans risque pour l'environnement (**Koller, 2009**).

III. Traitement des boues par des nanoparticules d'argent

1. Définition des nanoparticules

Le nano-argent (NAg) est défini comme étant de l'argent sous forme d'un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé, contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50 % des particules présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 et 100 nm (**INERIS, 2014**).

2. Intérêt des nanoparticules et de leurs propriétés

Les nanoparticules présentent des propriétés liées à leur taille : surface spécifique, et réactivité superficielle, super-paramagnétisme, forte activité d'oxydoréduction. Elles peuvent notamment trouver des applications dans divers domaines liés à l'environnement (réduction des émissions de polluants, catalyse, filtres) ou à l'énergie (amélioration de performances, stockage d'hydrogène à partir de nanotubes de carbone ...). Ces nano produits ou composés sont également développés pour le textile (amélioration de la qualité et des fonctionnalités des textiles en développant des propriétés mécaniques intéressantes ou en intégrant des objets

communiquant), la chimie et les matériaux (développement de nano composites à matrice polymère), les cosmétiques (filtration U.V, tenue des rouges à lèvres et des vernis à ongles, tenue à l'eau), la santé (diagnostic, lutte contre les cellules cancéreuses, ciblage des organes dans la délivrance de médicaments), l'automobile (réduction du poids des véhicules), verre (protection des surfaces contre la pluie, les rayonnements), la construction (renforcement de matériaux de construction...).

Le traitement de l'eau est un des domaines d'application des nanoparticules et des nanomatériaux. Ainsi, des nanoparticules manufacturées pourraient être mise en œuvre pour fabriquer :

- Des coagulants et adsorbants innovants, couplés également à une oxydoréduction.
- Des membranes réactives.
- Des adsorbants combinant des propriétés oxyde-réductrices.

Elles pourraient également aider à limiter la production de boues par régénération des adsorbants et permettre le développement de traitements *insitu* des eaux souterraines polluées.

La caractéristique d'hyperréactivité des nanoparticules est à l'origine de l'intérêt que ces structures génèrent actuellement. Il est important de rappeler que la réactivité caractérise l'affinité d'un adsorbât pour un adsorbant. La réactivité peut être la même par unité de surface pour des matériaux de surfaces spécifiques très différentes (AFSSA, 2008).

3. L'effet des nanoparticules d'argent sur les microorganismes du sol

Les propriétés antibactériennes des nano d'argent sont de plus en plus utilisées dans une gamme de matériaux et de produits de consommation (ex. plastiques, textiles, revêtements de surface, cosmétiques). Comme leur utilisation est en augmentation, elles sont donc plus susceptibles d'être rejetées dans l'environnement. Si c'est le cas, elles pourraient avoir des effets néfastes sur les bactéries et autres organismes vivants des différents milieux. Les boues d'épuration pourraient donc contenir des NAg dans de nombreux pays, ces boues d'épuration sont séchées et épandues comme engrais sur les terres agricoles. Les chercheurs ont étudié plus précisément les effets des NAg intégrées dans les boues d'épuration sur les microorganismes du sol. Ils ont exploré d'abord les effets des NAg quand elles sont appliquées sous forme pure (sans mélange avec des boues d'épuration). Ils ont déterminé que les bactéries essentielles au cycle naturel de l'azote ont été de plus en plus inhibées en 28 jours d'essais. La taille globale des populations microbiennes, en termes de biomasse, a diminué Cours de cette période [8].

Ils ont ensuite évalué les effets à long terme des NAg lorsqu'elles sont incorporées dans les boues d'épuration. Les échantillons de boue ont été traités en laboratoire selon les protocoles standards utilisés dans les centres de traitements. La concentration prévisible sans effet de NAg dans le sol (la plus forte concentration en dessous de laquelle on s'attend à ce qu'aucun effet nocif ne se produise) était de 0,05 mg/kg de sol sec. Cela équivaut à une quantité maximale de 30 mg/kg de boue sèche à chaque application au champ. L'absorption des NAg dans les boues d'épuration et leur durée de vie dans le sol peuvent provoquer des effets toxiques sur les micro-organismes du sol de l'écosystème terrestre [8].

Les nanoparticules d'argent ont le potentiel de se lier aux membranes des cellules et ainsi de leur causer de grands dommages. Il est possible qu'elles entrent dans les cellules et causent des dommages cellulaires pouvant même causer la mort de la cellule, Le mode d'action des NAg n'est pas encore totalement compris mais l'hypothèse est qu'une fois à l'intérieur de la cellule elles se lient aux ligands contenant du soufre permettant ainsi la dénaturation des protéines, ce qui causerait la mort de la cellule (ophélie, 2008).

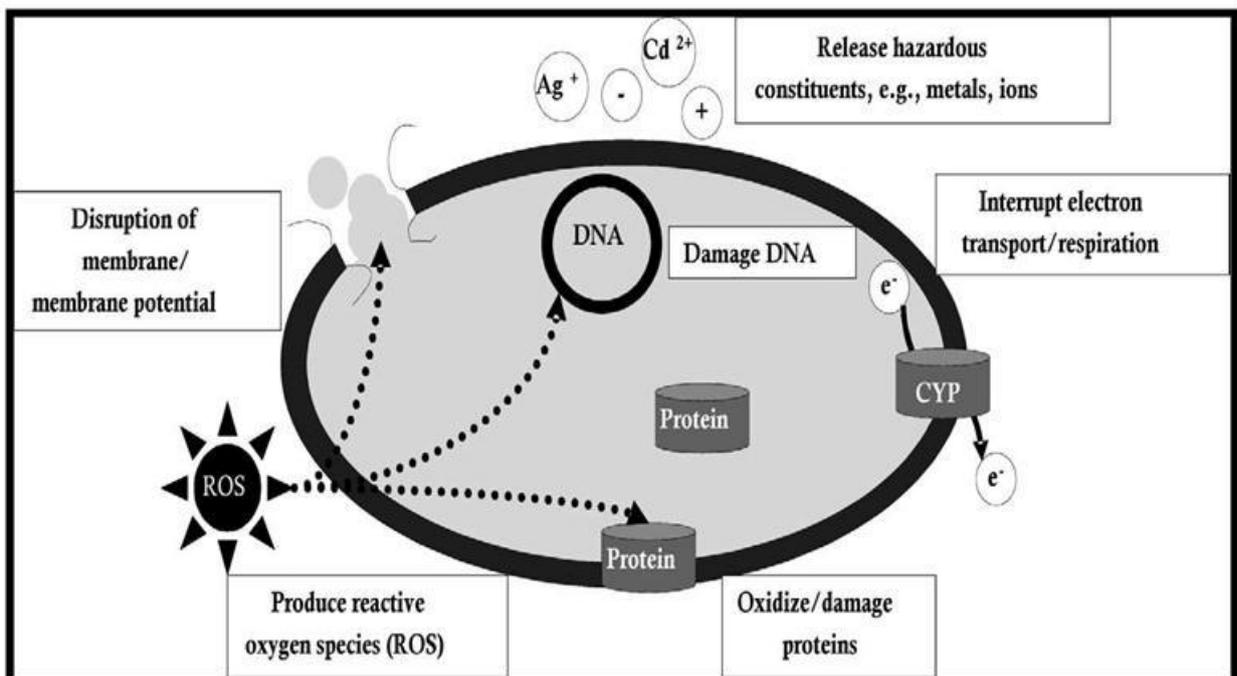


Figure 12: Schématisation des possibles mécanismes de toxicité des nanomatériaux sur des cellules bactériennes. CYP=cytochrome P (Marie, 2006).

Partie 77 : Etude expérimentale

Matériel

et

méthodes

1. Le mode de prélèvement et de transport des boues liquide

Le prélèvement effectué en bute d'une étude microbiologique des boues résiduaires mixte a été réalisé au niveau de bassin de stabilisation (**P. Fig.13**) de STEP de la ville de Guelma qui se situ sur la route nationale N°21, pont Héliopolis près d'oued Seybouse.

Le transport est assurer des emballages iso thermique, les flacons en verre seront stérilisés, au four pasteur pendant 1h 30 à 180 C°.

D'un flacon générale, le transport à la température de 4C° et a l'obscurité dans des emballages isothermes permet d'assures une conservation satisfaisante (**Rodier, 2009**).

Notre thème avait pour but l'étude bactériologique des boues résiduaires de la STEP de Guelma qui a été effectuée au niveau des laboratoires de microbiologie et de biochimie du département de Biologie à l'université 08 Mai 1945 Guelma avant et après traitement au NAG solution liquide à 0,02 N, fournit par Sonatrach de Skikda.

Dans notre travail on a fait le traitement des boues liquide par une concentration de 2,5 mM conservée pendant 24h puis soumet à une analyse bactériologique (**Bouchelegem et Bouregaa, 2015**).



Figure 13: Schéma de station d'épuration de la ville de Guelma (Karaali *et al.*, 2008).

2. L'analyse bactériologique

L'analyse débute par l'acte de prélèvement qui doit mettre en œuvre des méthodes propres à assurer l'absence de contamination de l'échantillon et la survie bactérienne (conditions de conservation). Sont indiquées ensuite les méthodes générales d'examen bactériologique des boues liquide au niveau de laboratoire de la microbiologie, qui est présente un choix de technique appliquées à la recherche de bactérie inductrice de la pollution et d'efficacité de traitement (bactéries aérobies révivifiable coliformes totaux, coliforme thermotolérant, streptocoques fécaux, anaérobies sulfito-réducteurs...etc, et germes pathogènes) (Rodier, 2009).

2.1. Recherche et dénombrement des bactéries aérobies révivifiables (germes aérobies mésophiles ; hétérotrophes)

Cet examen vise à dénombrer non spécifiquement le plus grand nombre de micro-organismes; en particulier de bactéries se développant dans les conditions aérobies habituelles (Rodier, 2009).

Le dénombrement des germes aérobies mésophiles est utilisé comme indicateur de pollution (Rodier, 2009).

➤ Mode d'opérateur

A partir des boues à analyser et des dilutions décimales 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} , porter aseptiquement 1 ml dans trois boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage.

Compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45 \pm 2^\circ\text{C}$.

Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » sur une surface horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose (Lebres, 2002).

Les boîtes seront incubées à $36 \pm 2^\circ\text{C}$, pendant 48 heures (Lebres, 2006) (Fig.14).

➤ Lecture

Les germes révivifiables se présentent sous forme des colonies lenticulaires poussant en masse, ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies (Lebres, 2002).

▪ interprétation

Calculer la valeur du nombre N de microorganismes révivifiants à $37 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ en tenant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante : $N = \frac{\sum c}{1.1 \times d}$

Où :

$\sum c$: est la somme des colonies dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution (Rodier, 2009).

Exprimer les résultats en UFC/ml (Bouchelaghem et Bouregaa, 2015).

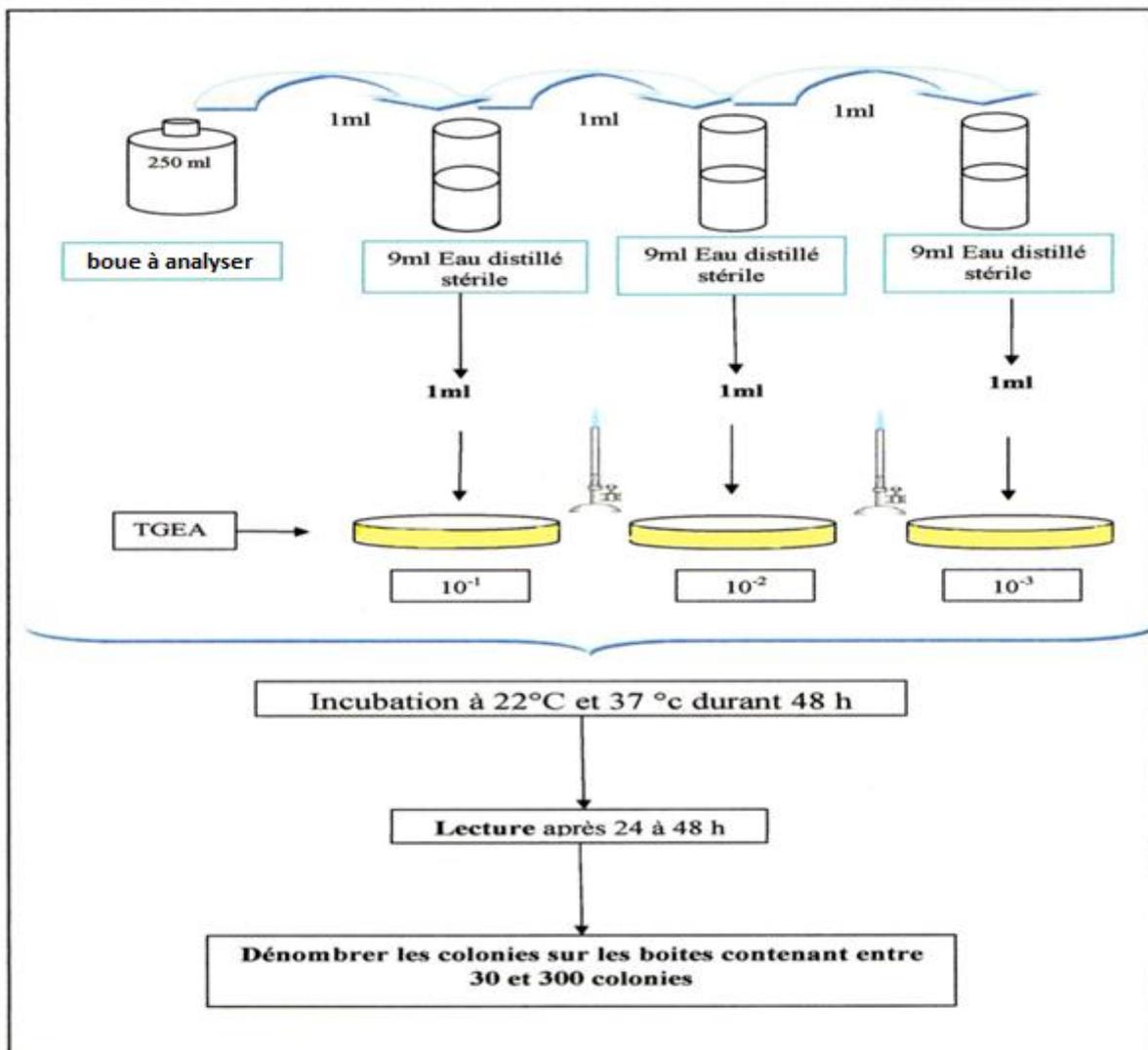


Figure 14: Recherche des germes totaux (Cheghib et Fecih, 2014)

2.2. Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale

Les indicateurs spécifiques sont des espèces que l'on rencontre exclusivement dans les matières fécales: les streptocoques fécaux et les coliformes fécaux ou thermo tolérants présents en concentration importante dans les selles des mammifères. Les indicateurs non spécifiques qui sont essentiellement les coliformes totaux les *Clostridium* sulfito-réducteurs, peuvent se retrouver dans matières fécales mais également vivre et se multiplier dans les milieux naturels (Bouchlaghem et Bouregaa, 2015).

2.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux

-Le terme « coliforme »

Correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogones, Gram négatifs, oxydase négatifs, facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose (et le mannitol) avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37 °C:

– Le terme de « coliformes fécaux » ou de « coliformes thermo-tolérants »

Correspond à des coliformes qui présentent les mêmes propriétés (caractéristiques des coliformes) après incubation à la température de 44 °C (Rodier, 2009).

Afin d'examiner ces 2 types de germes on réalise les 2 tests suivants (Fartas *et al.*, 2015) :

A. Test présomptif

A partir de l'eau testée, on porte aseptiquement :

- 03 fois 10 ml, dans 03 tubes contenant 9ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham.
- 03 fois 01 ml, dans 03 tubes contenant 9 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham.
- 03 fois 0.1 ml, dans 03 tubes contenant 9 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham (Rejsek, 2002).

➤ **Lecture**

Après 48 Heures d'incubation à 37°C et en absence d'air, seront considérés comme positifs les tubes qui présentent à la fois un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune et un dégagement gazeux se considèrent comme positifs.

Le dénombrement des coliformes se fait selon les prescriptions de la table du NPP (Rejsek, 2002).

B. Test confirmatif (test de Mac Kenzie)

Le test confirmatif est basé sur la recherche de coliformes thermo tolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

Repiquer chaque tube de BCPL trouvé positif avec une anse bouclée ou une pipette pasteur dans le (ou les) milieu (x) de confirmation. Comme milieu confirmatif, on a utilisé dans le premier prélèvement : le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.

Chasser l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum. Incubation se fait cette fois-ci à 44°C pendant 24h (Bouchlaghem Bouregaa, 2015).

➤ **Lecture**

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant :

Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs (Fig.15) (Bouchlaghem et Bouregaa, 2015).

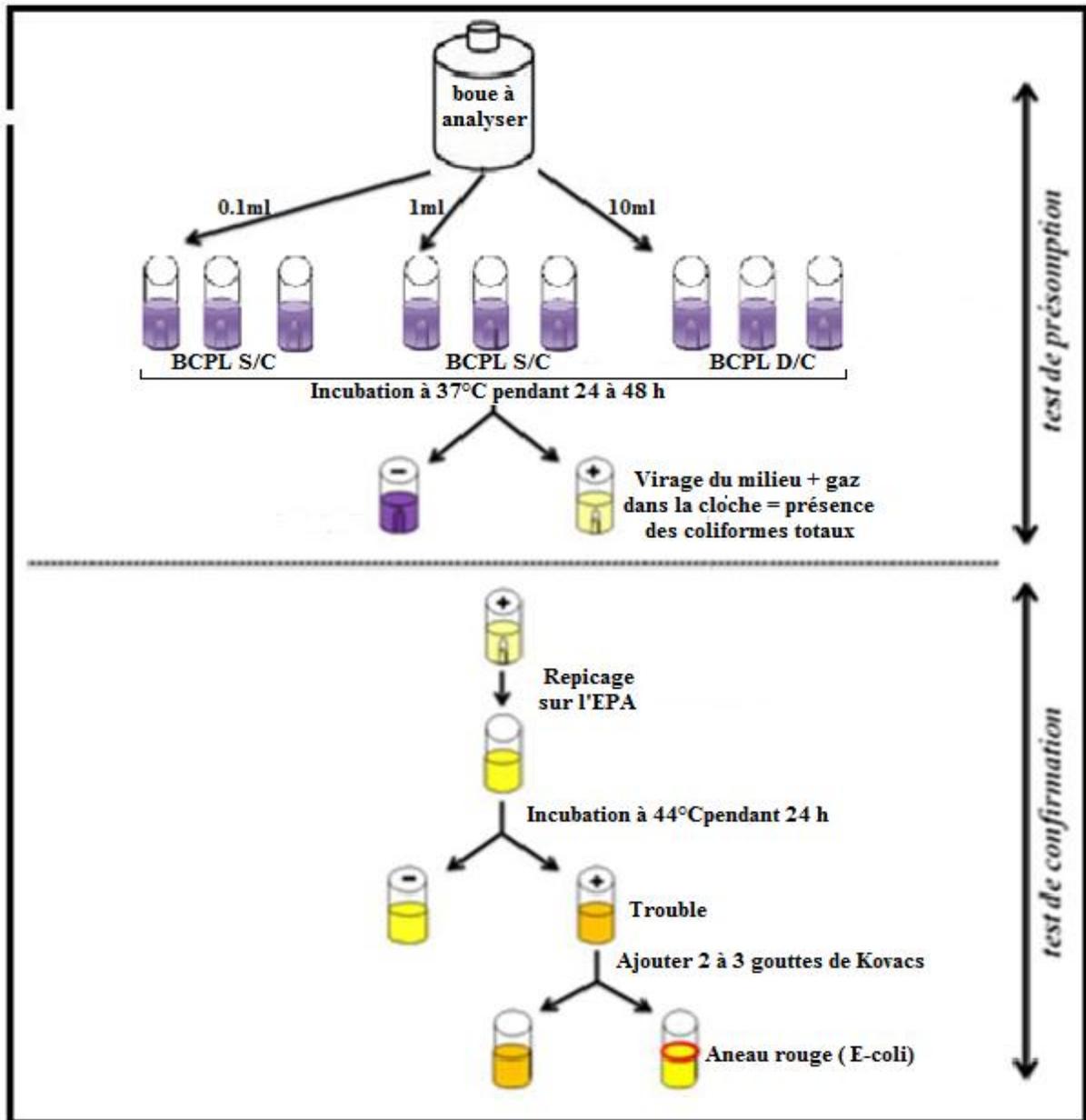


Figure 15: Recherche et dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux (Zouaimia et Brahmia, 2013).

2.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Les streptocoques du groupe D (possèdent l'antigène du groupe D) sont des coques à Gram (+), catalase(-), immobile, anaérobie facultatif, et non sporulant formant quand ils sont cultivés en milieu liquide des diplocoques et/ou des chainettes (Gillespi, 2006).

La recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux, en milieu liquide par la technique du NPP, se fait en deux étapes consécutives (Rejsek, 2002).

On fait 2 tests successivement : un test présomptif en milieu de Rothe, et un test confirmatif en milieu Eva-Litsky (Rodier, 2009).

A. Test présomptif

➤ Mode opératoire

- ✓ A partir de des boues analysées, porter aseptiquement 1 ml dans un tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C pour obtenir la dilution 10^{-1} .
- ✓ Prélevé 1ml de tube précédent 10^{-1} et mettre dans le seconde tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C pour avoir la dilution 10^{-2} .
- ✓ Transférer 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C, pour obtenir la dilution 10^{-3} .
- ✓ Refaire la technique pour les 2 autres séries.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures (**Rejsek, 2002; Délarras, 2008**).

➤ Lecture

Les tubes présentant un trouble microbien seront considérés comme positifs (**Fig.16**) et la lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP (**Rejsek, 2002; Délarras, 2008**).

A. Test de confirmation

Réservé à la confirmation réelle de la présence des streptocoques fécaux du groupe D à partir des tubes positifs du test de présomption, les tubes du milieu Rothe qui présentent un résultat positif font donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans des tubes contenant le milieu Evalitsky, l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (**Guide, 2007**).

➤ Lecture

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- ✓ Un trouble microbien.
- ✓ Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.
- ✓ Le dénombrement s'effectue selon les prescriptions du tableau du NPP (**Guide, 2007**)

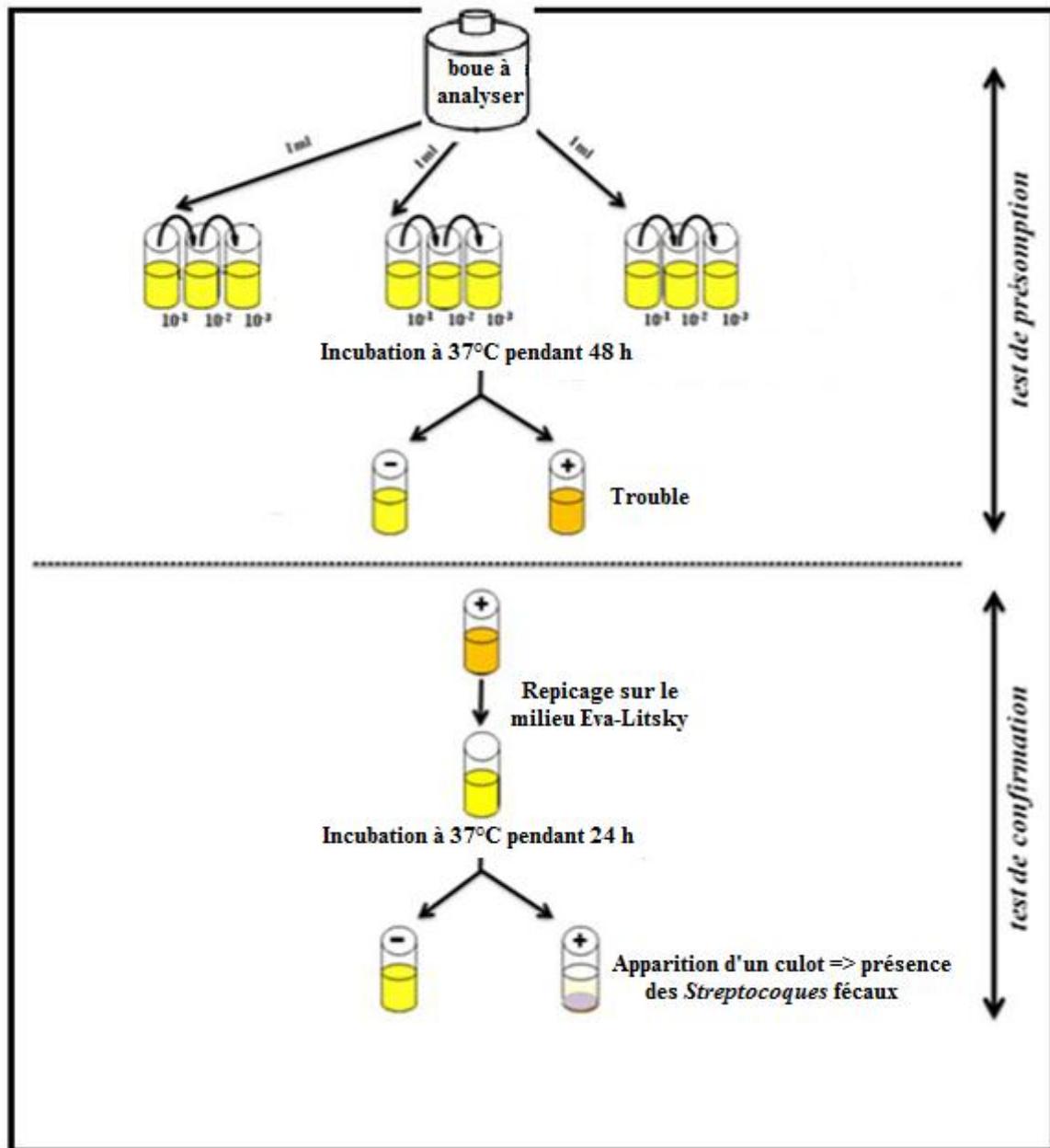


Figure 16: Recherche et dénombrement des streptocoques (Abessa et Tabet,

2.2.3. Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)

Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram+, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose viande foie (VF) en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de ion de fer (Fe^{2+}) donne sulfure de fer (FeS) de couleur noire. Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne (Rejsek, 2002).

➤ **Mode opératoire**

Après l'avoir homogénéiser soigneusement, introduire 25 ml des boues à analyser dans un tube stérile et placer celui-ci dans un bain d'eau à 80°C pendant 10 minutes dont le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes, puis refroidir rapidement sous l'eau de robinet.

Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes stériles, à raison de 5 ml par tube.

Couler dans chacun d'eux 20 ml de gélose VF, fondue puis refroidir à $45 \pm 1^\circ\text{C}$, additionnée 1 ml de la solution de sulfite de sodium et 4 gouttes de la solution d'alun de fer. Mélanger doucement sans incorporer de bulles d'air.

Laisser solidifier sur la paillasse pendant 30 minutes environ, puis incubé à 37°C pendant 24 à 48 h (**Lebres, 2006**) (**Fig.17**).

➤ **Lecture**

- La lecture se fera après 24 heures et après 48 heures.
- Dénombrer toute colonie noire d'environ 0,5 mm de diamètre, poussant en masse (**Rejsek, 2002**).

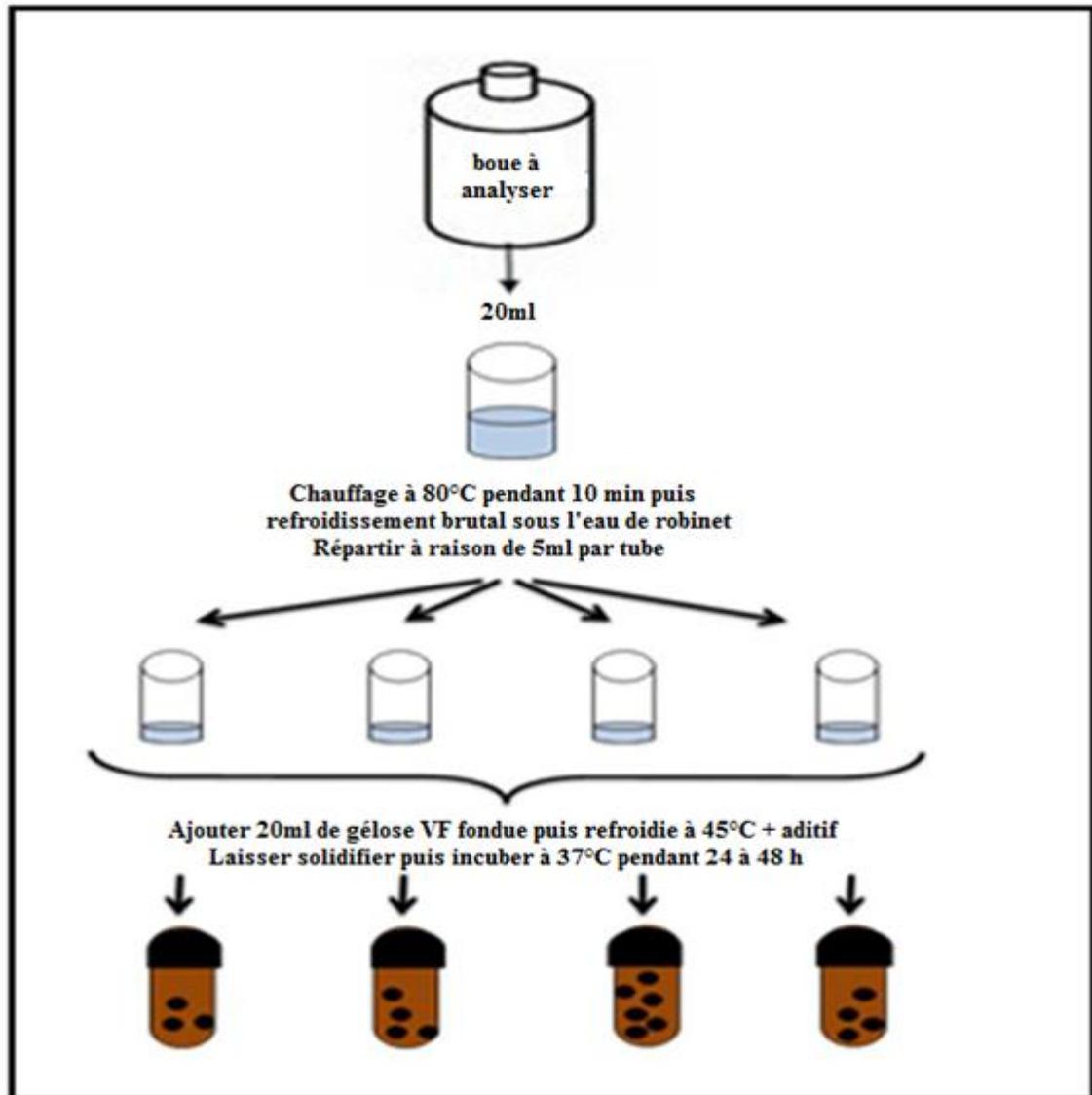


Figure17: Recherche et dénombrement des ASR (Rejsek, 2002).

2.3. Recherche et dénombrement des *Streptomyces*

Les germes du genre *Streptomyces* sont des bactéries aérobies, présentant un groupe de bactéries non mobiles à Gram (+), catalase (+), filamenteuses et productrices des spores (Fartas *et al.*, 2015).

➤ Mode opératoire

À partir des dilutions décimales (10^{-1} et 10^{-3}), on ensemence 0.2 ml par râteau toute la surface des boîtes de pétri contenant le milieu GELM. Par la suite, les boîtes sont incubées à 30°C pendant une semaine (Fig.18), les colonies développées à la surface seront dénombrées (Fartas *et al.*, 2015).

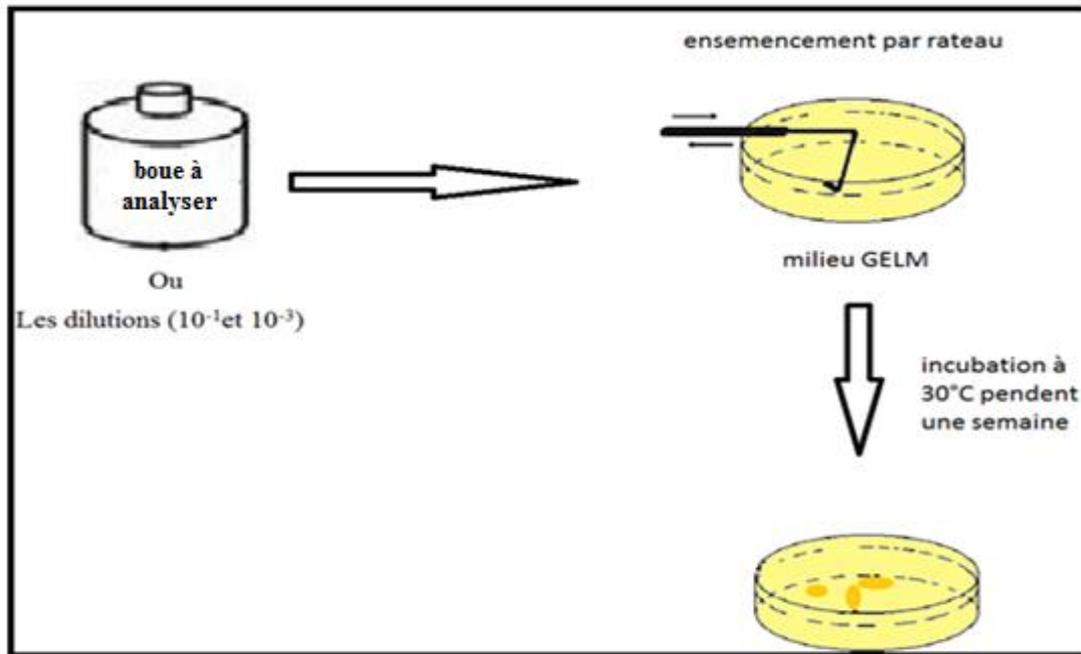


Figure 18: Recherche des *Streptomyces*.

2.4. Recherche des germes pathogènes

Il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes, celles-ci vivent ou survivent dans l'environnement, soit provenant des rejets humains, éliminées par des sujets malades ou des porteurs sains, soit étant autochtones et pouvant s'adapter à l'homme: *Campylobacter jejuni*, *Legionella pneumophila*, leptospires, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, *Shigella*, staphylocoques pathogènes, *Vibrio*, *Yersinia enterocolitica* (Rodier, 2009).

2.4.1. Recherche et dénombrement du *Pseudomonas*

A partir des boues analyser et des dilutions décimales (10⁻¹ à 10⁻³) porter aseptiquement 0.2 ml et l'on étale à la surface de gélose Cétrimide, à l'aide d'un râteau, puis on incube à 36 ± 2 °C pendant 18 à 24 h (Bouchaala, 2010) (Fig.19).

- **Recherche des pigments spécifiques : pyocyanine et pyoverdine**

Le milieu King A est destiné à favoriser sélectivement la synthèse de la pyocyanine.

Le milieu King B est destiné à favoriser la synthèse de pigment jaune-vert fluorescent pyoverdine (Bouchaala, 2010).

➤ **Mode opératoire**

On repique quelques colonies à l'aide d'une anse de platine à partir du milieu Cétrimide pré-ensemencé puis on les ensemence sur chacun de ces 2 milieux (**Pillet *et al.*, 1987**).

Enfin on incube à 37°C pendant 24h à 48h (**Pillet *et al.*, 1987**).

➤ **Lecture**

- ✓ Couleur bleue fluorescente sur le milieu King A : présence de pyocyanine.
- ✓ Couleur jaune-vert fluorescente sur le milieu King B : présence de pyoverdine (**Bazine et Bourenane, 2011**).

➤ **Test Citrate de Simmons**

Ce test permet de vérifier si la bactérie testée est capable d'utiliser le Citrate comme seule source de carbone.

Le milieu utilisé est le milieu Citrate de Simmons qui est sous forme d'un tube semi-incliné (**Bazine et Bourenane, 2011**).

➤ **Mode opératoire**

- ✓ Ensemencer la pente par une strie longitudinale, réalisée par l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillé stérile.
- ✓ Incuber à 37°C pendant 24h (**Delarras, 2000**).

➤ **Lecture**

- ✓ Virage de l'indicateur du pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est Citrate de Simmons (+).
- ✓ Pas de virage de l'indicateur du pH: pas d'alcalinisation du milieu et la souche ne pousse pas, donc elle est Citrate de Simmons (-) (**Delarras, 2000**).

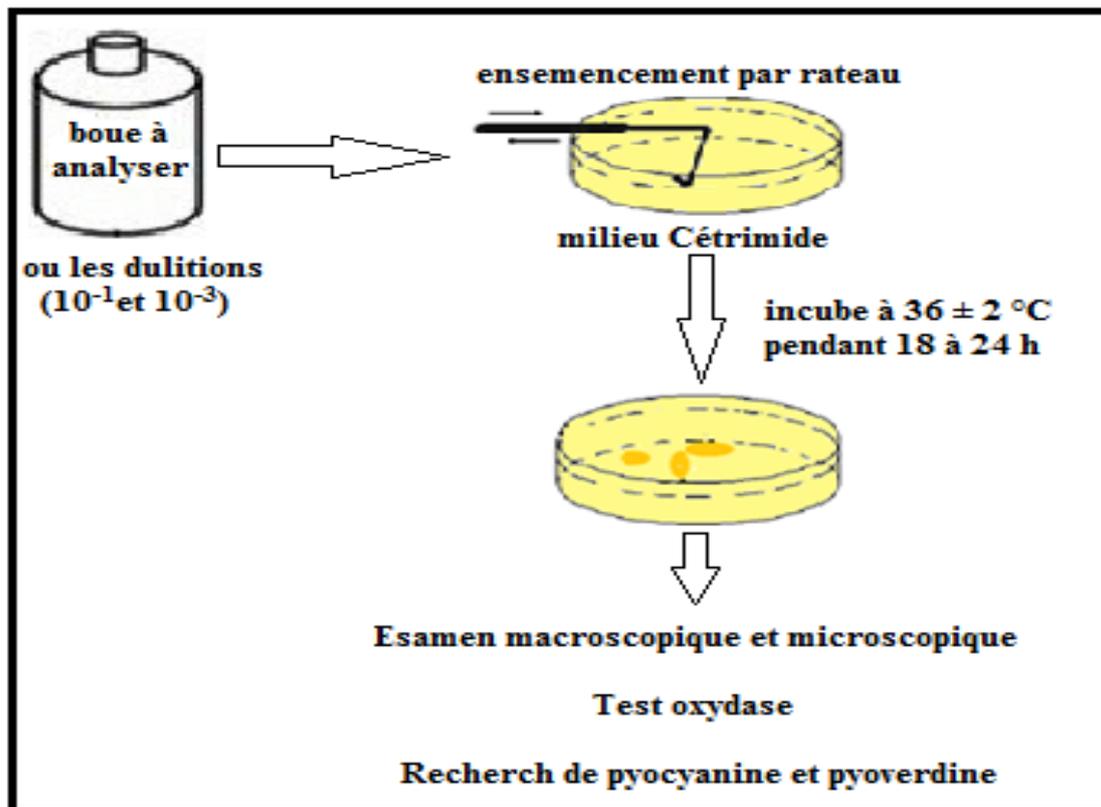


Figure 19: Recherche *Pseudomonas*.

2.4.2. Recherche des *staphylocoques*

- **Principe**

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif, permettant la croissance des germes halophiles, ce milieu contient un agent inhibiteur (forte concentration en chlorure de sodium), parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus* (Joffin *et al.*, 2001).

- **Mode opératoire**

À partir de la solution mère, on ensemence 1 ml par râteau toute la surface des boîtes de pétri contenant le milieu Chapman. Par la suite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48h (Rodier, 2005).

- **Lecture**

- Si le milieu reste rouge, les colonies sont mannitol (-) car elles ne fermentent pas le mannitol, légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique.

- Si le milieu devient jaune, les colonies sont mannitol (+) car elles fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu (**Fig.20**).

Les colonies suspectes sont confirmées par :

- ✓ Un examen microscopique après coloration de Gram
- ✓ Un test au mannitol mobilité.
- ✓ Un test à la catalase (**Fartas *et al.*, 2015**).

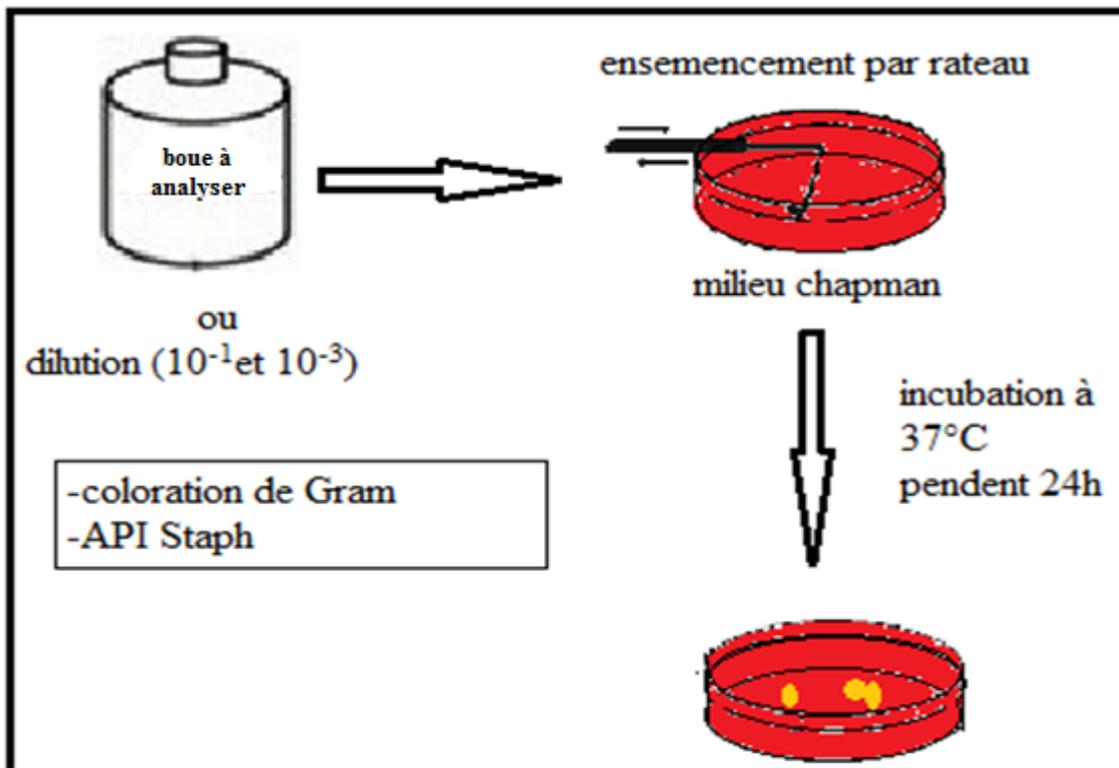


Figure 20: Recherche des *Staphylocoques*.

2.4.3. Recherche des entérobactéries

A. Recherche des *salmonelles*

Agar gélose pour *Salmonella Shigella* (SS) est un milieu sélectif et différentiel pour l'isolement des bacilles entériques pathogènes, particulièrement ceux appartenant au genre *Salmonella* issus d'échantillons cliniques (**King et Metzger, 1986**).

Jour 1 : Premier enrichissement

Introduire 1ml de l'échantillon des boues dans 10 ml de sélénite cystéine(SFB) (**Ait Hamlet, 1998**). Puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 h (**Iebres, 2002**).

Jour2 : Deuxième enrichissement

Ce tube fera l'objet :

- D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu SFB en tubes à raison de 1ml ;
- D'une part, d'un isolement sur les géloses Hectoén,SS et Mac Conkey (**Abidi et al., 2013**).

Jour3 : Lecture des boîtes et identification

- D'une part, le tube de sélénite fera l'objet d'un deuxième isolement,
- D'une part, les boîtes des géloses Hectoén,SS et Mac Conkey subira une lecture (**Abidi et al ., 2013**) (**Fig.21**).

➤ Lecture

Après 24 h, des salmonelles se présentent sous forme des colonies incolores à centre noir (H₂S positif) sur SS et colonies verdâtre ou bleuâtre à centre noir Hektoen (**Navoun, 2005**).

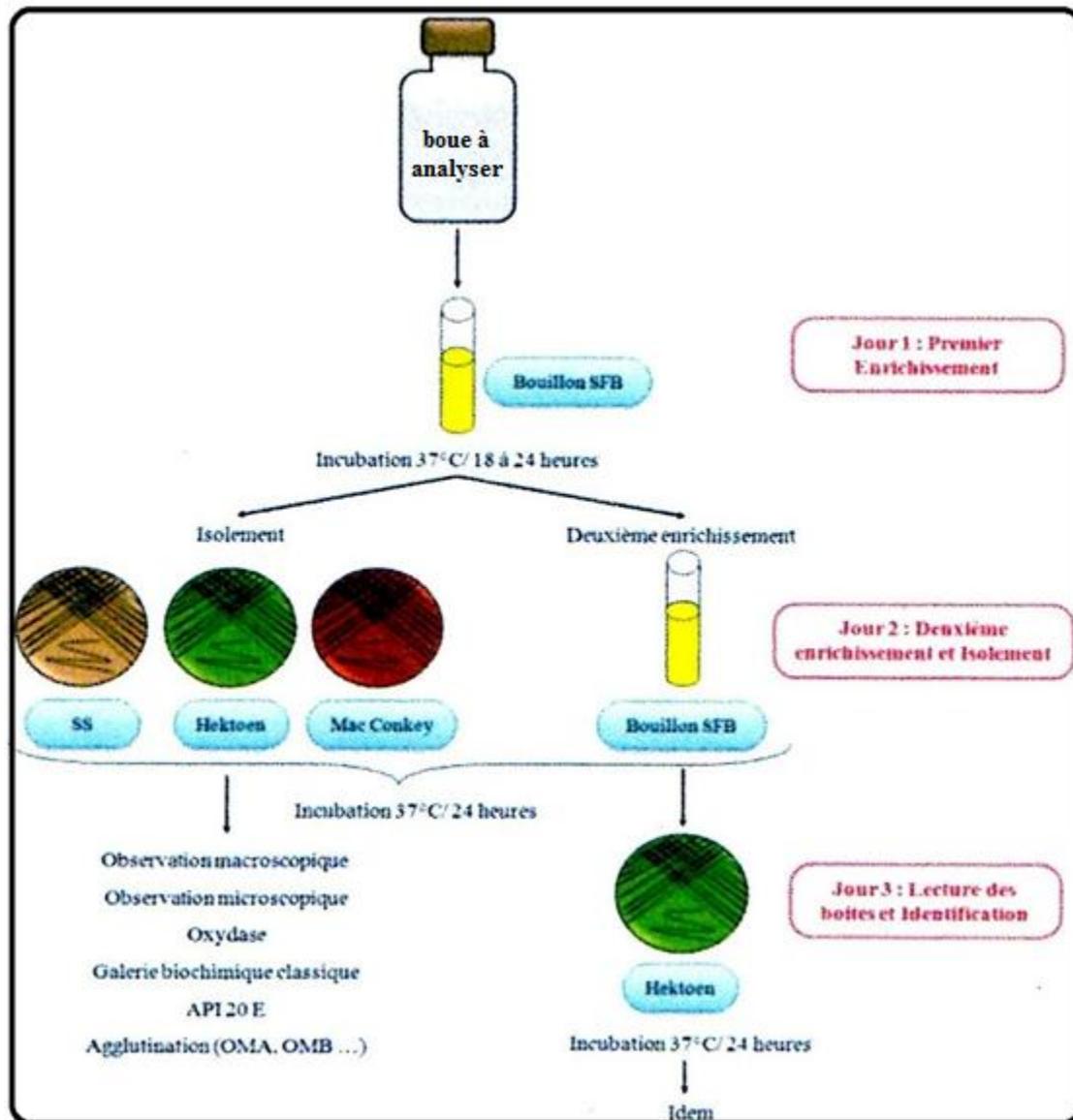


Figure 21: Recherche des *Salmonelles* (Bouchlegem et Bouregaa,

B. Les shigelles

Les Shigella sont des entérobactéries immobiles à Gram (-) ne fermentent pas le lactose, elles n'ont pas d'uréase et ne produisent pas du gaz. Elles sont un parasite de l'homme (Rodier, 2009).

➤ Mode opératoire

À partir des dilutions décimales (10^{-1} et 10^{-3}), on ensemence 0.2 ml par râtelier toute la surface des boîtes de pétri contenant le milieu SS. Par la suite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h (Fig.22) (Rodier, 2009).

- **Lecture**

Après 24 heures à 37°C en aérobiose, en général :

- ✓ Colonies incolores : absence d'acidification du milieu : bactéries lactose.
- ✓ Production d'H₂S : Colonies noires ou à centre noir: production de sulfure de fer noir (Abessa et Tabet, 2014).

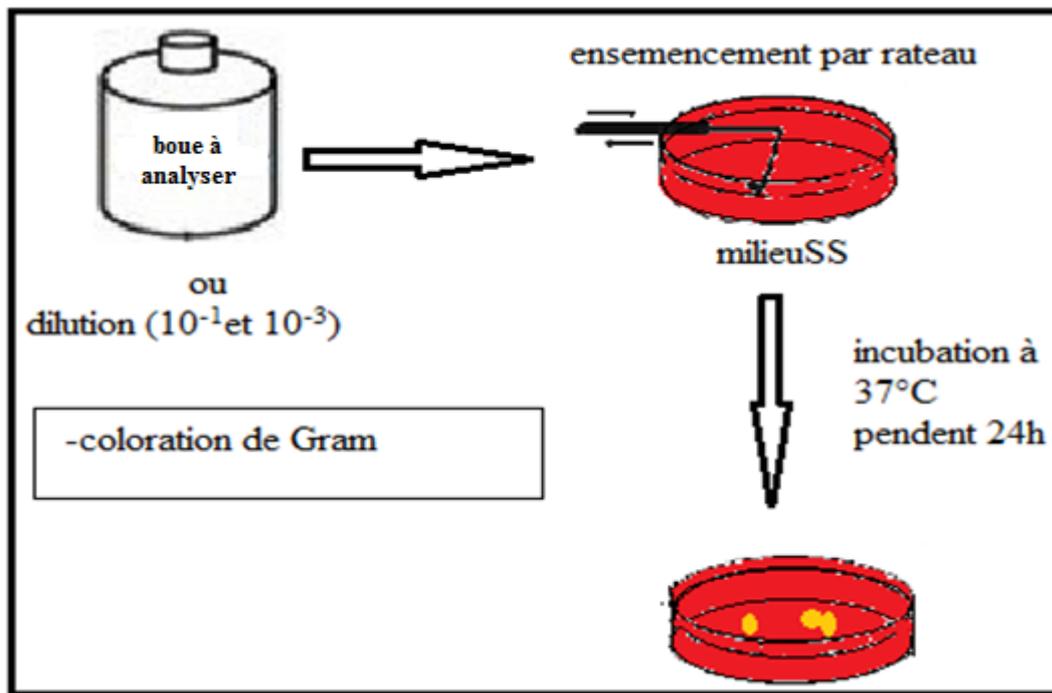


Figure 22: Recherche des *Shigelles*.

2.4.4. Recherche des *Vibrios*

Les *Vibrios* se présentent sous forme de Bacilles Gram Négatifs droits ou incurvés (BGN), très mobiles, possédant une oxydase, aéro-anaérobies facultatifs, fermentant le glucose sans production de gaz ni d'H₂S (Abess et tabet, 2014).

Jour 1 : Premier enrichissement

Le premier enrichissement s'effectue dans des tubes portés 10 ml de milieu eau peptonée alcaline (EPA) ; Ce dernier sera par la suite incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures, comme l'indique la figure (Fig.23).

Jour 2: deuxième enrichissement et isolement

- D'une part, d'un deuxième enrichissement sur le milieu EPA en tubes à raison de 1 ml ;
- D'une part, d'un isolement sur gélose GNAB. Dans les deux cas l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures (**Lebres, 2008**).

Jour 3 : Lecture des boîtes et identification

- D'une part, le tube d'EPA fera l'objet d'un isolement sur GNAB 2 ; qui sera incubé à son tour à 36± 2°C pendant 24 heures ;
- D'une part, les boîtes de gélose GNAB 1 subiront une lecture en tenant compte du fait que les *Vibrios* se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparentes caractéristique (**Lebres, 2008**).

Identification morphologique et biochimique

Sur GNAB ; les colonies sont rondes, plates, bord réguliers, surface lisse brillantes, translucides sous forme de goutte de rosée (**Patrick *et al.*, 2009**).

Une identification morphologique basée essentiellement sur :

- Etat frais et coloration de Gram ;
- Oxydase(+)
- Ensemencement d'une galerie biochimique classique ou bien galerie API 20 NE (**Abdellioui *et al.*, 2012**).

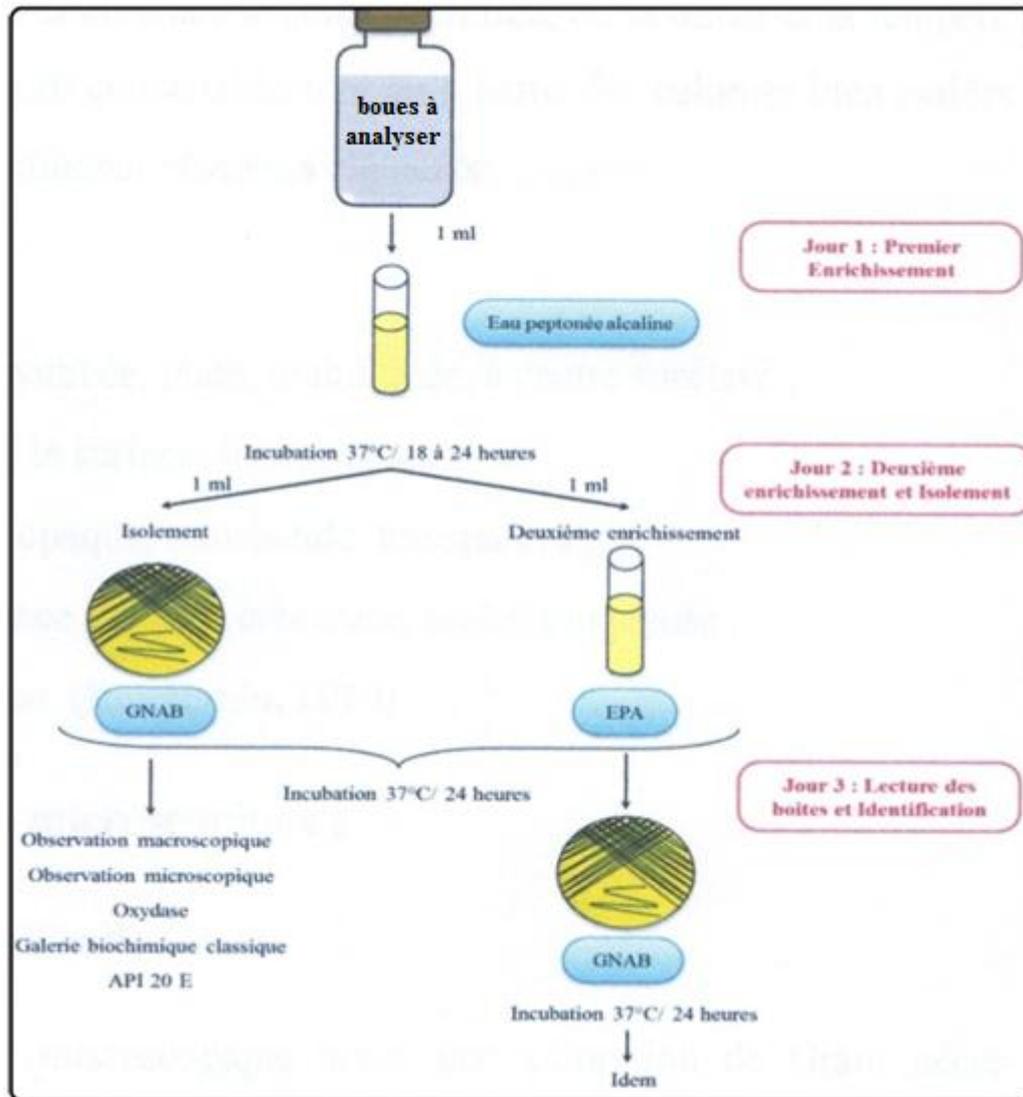


Figure 23: Recherche des *Vibrios* (Razkallah et Zerari, 2013).

2.4.5. Recherche des levures

L'isolement des levures peut être pratiqué sur le milieu Sabouraud qui constitue un milieu classique pour la culture et rendu sélectif par addition de chloramphénicol ou de gentamicine (Fartes *et al.*, 2015).

➤ Mode opératoire

Ensemencer 0.2 ml de la solution mère et des dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-3}), à la surface du milieu Sabouraud. Incuber à 30°C pendant une semaine (Abessa et Tabet, 2014).

- **Lecture**

La lecture se fait après une semaine (**Fig.24**). Les colonies *Candida albicans* apparaissent bombées, crémeuses et blanchâtres. Elles sont lisses et peuvent se plisser en vieillissant (**Abessa et Tabet, 2014**).

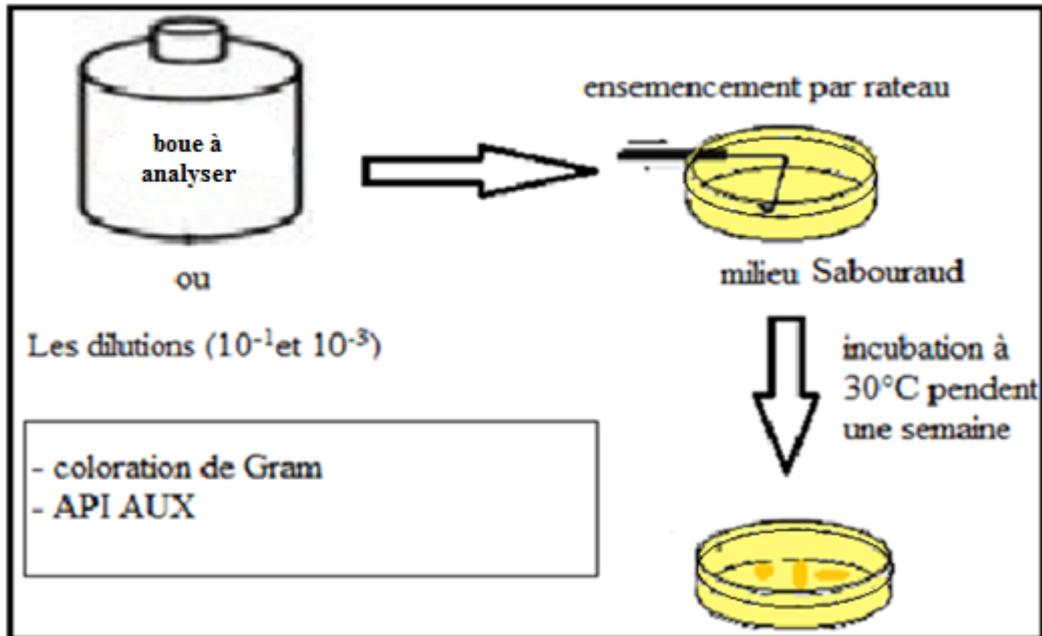


Figure 24: Recherche des levures

3. Identification des bactéries isolées

3.1. Examen macroscopique des caractères cultureux

L'aspect des colonies dépend du milieu, de la durée et la température d'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir des colonies bien isolées.

La description des colonies doit mentionner plusieurs éléments :

- La taille.
- La forme : bombée, plate, ombiliquée, à centre surélevé.
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux.
- L'opacité : opaque, translucide, transparent.
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse.
- Pigmentation (**Delarras, 2003**).

3.2. Examen microscopique après coloration de Gram

✓ Les étapes de coloration de Gram

- À partir de la culture à étudier préparer un frottis.
- Réaliser une coloration simple au violet de Gentiane, laisser agir pendant 1 minute. Ajouter le Lugol et laisser agir pendant 1 minute.
- Laver à l'eau puis à l'alcool.
- Recolorer avec la Fuchsine, laissé agir pendant 30 secondes (Delarras *et al.*, 2003) (Fig.25).

• Lecture

Observer au microscope :

- Les bactéries Gram- sont roses.
- Les bactéries Gram+ sont de coloration violette.

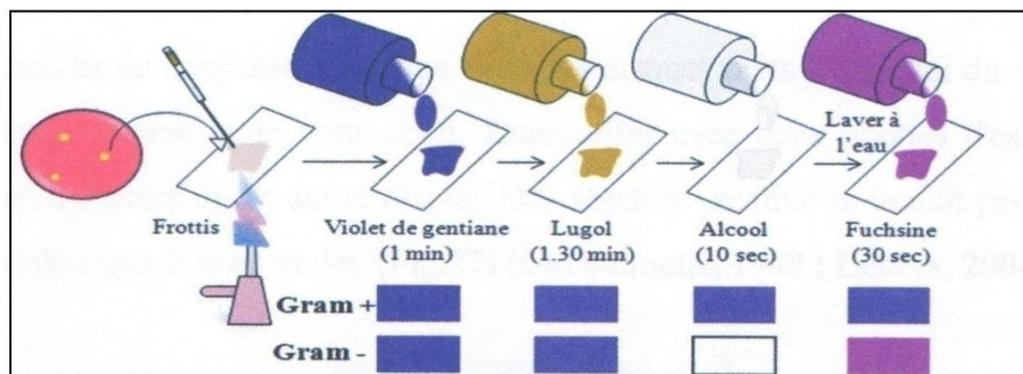


Figure 25: Les étapes de coloration de Gram (Abdi *et al.*, 2013).

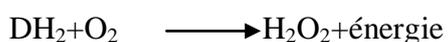
3.3. Profil biochimique

Les tests qu'on pu réaliser sont:

- Test d'oxydase
- Principe

L'oxydase est une enzyme catalysant une réaction d'oxydo-réduction impliquant une molécule de dioxygène (O₂) comme accepteur d'électron. Dans ces réactions, l'oxygène est réduit en eau (H₂O) ou en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Une bactérie possède l'enzyme respiratoire, appelée le cytochrome oxydase (dernière enzyme de la chaîne respiratoire, alors elle peut faire la réaction suivante :



- **Technique**

La technique consiste à utiliser des disques (OX) commercialisés par l'institut Pasteur, ces disques sont imprégnés de l'oxalate de diméthyle paraphénylène diamine, ce composé est oxydé par le système cytochrome C des bactéries dites positive en un composé violet.

En pratique, le disque est imbibé avec une ou deux gouttes d'eau distillée stérile et une parcelle de culture prélevée à l'aide d'une anse de platine est alors étalée sur ce disque.

La présence d'oxydase se manifeste alors par le développement d'une coloration violette. (Mechai, 2009) (Fig. 26).

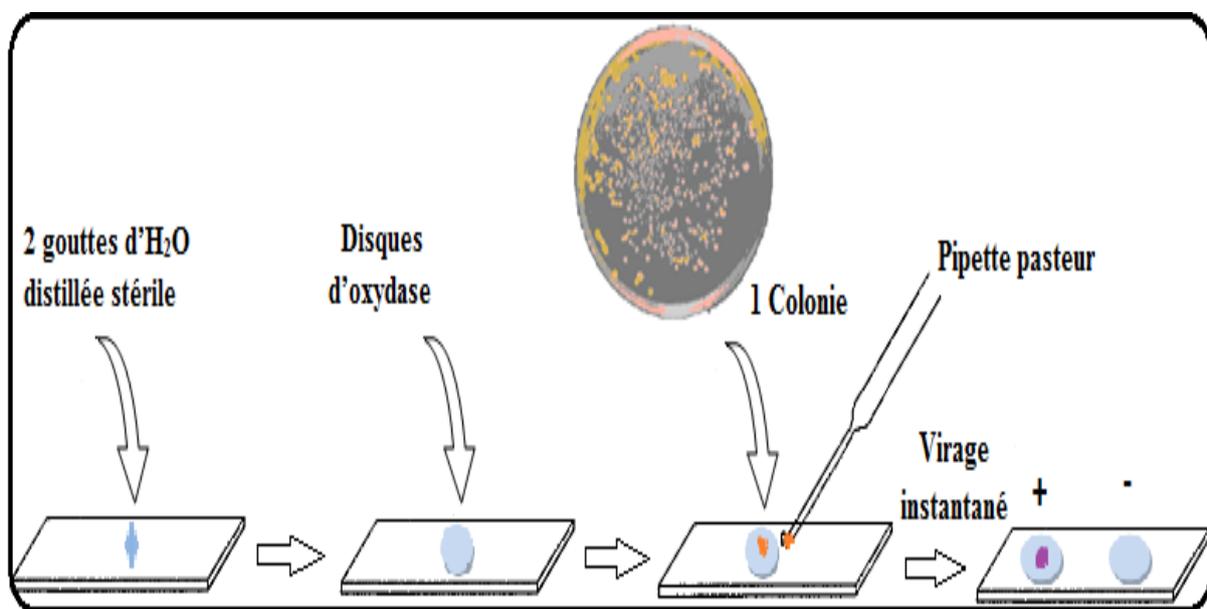


Figure 26: Test d'oxydase.

- **Recherche de la catalase**

La recherche d'une catalase est un test important pour différencier les staphylocoques des streptocoques. Les staphylocoques donnent des réactions positives alors que les autres donnent des réactions négatives.

- **Principe**

La catalase est une enzyme qui dégage l'eau oxygène (issus de la voie respiratoire Oxydative directe) en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante:



- **Technique**

La technique consiste à déposer une colonie de la culture à tester sur une goutte d'eau oxygénée.

Si les bactéries examinées possèdent une catalase, on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses. Si un dégagement de bulles de gaz (oxygène) apparaît, le test est dit positif (**Delarras, 2003**) (**Fig. 27**).

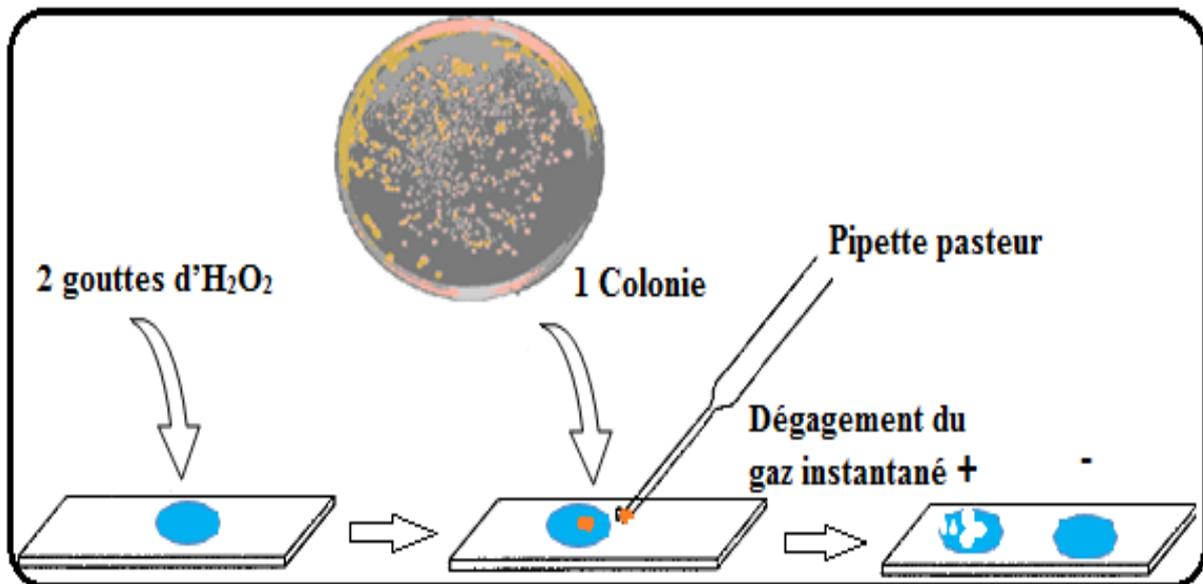


Figure 27: Test catalase.

- ❖ **Test Mannitol mobilité**

- L'étude de la dégradation du mannitol et l'appréciation de la mobilité sont réalisés sur le milieu Mannitol-mobilité qui est un milieu semi solide (**Delarras, 2003**).

- **Techniques**

- Ensemencer le milieu par pique centrale à l'aide du fil droit de l'anse de platine qui doit être trop chargé par la suspension bactérienne préparée préalablement.
- Incuber à 37°C pendant 24h (**Guiraud, 1998**).

- **Lecture**

- Fermentation du Mannitol :
- ✓ Virage de la couleur du milieu de rouge au jaune : test Mannitol (+).
- ✓ Pas de la couleur du milieu : test Mannitol (-).
- La mobilité : se traduit par un envahissement plus ou moins grand à partir de la pique centrale (**Guiraud, 1998**).

❖ La Galerie API 20E

La galerie API 20E est un système pour l'identification des Entérobactéries et autres bacilles Gram négatifs, utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données (**Abessa et Tabet, 2014**) (**Fig.28**).

✓ Principe

La galerie API 20E comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (**Abessa et Tabet, 2014**).

✓ Mode opératoire

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Remplir les tubes et les cupules des tests : |CIT |, |VP |, |GEL|, avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules avec l'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation, coder et placer à 37 °C pendant 18-24 heures (**Abessa et Tabet, 2014**)

➤ Lecture

Noter sur la fiche de résultat toutes réactions spontanées et révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

- ✓ Test VP : ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.
- ✓ Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.
- ✓ Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kovacs. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive.

La lecture de ces réactions se fait selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20E (Abessa et Tabet, 2014)



Figure 28: API 20 E.

❖ La galerie API 20 NE

C'est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (exp: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas* ..etc) (Abessa et Tabet, 2014) (Fig.29).

✓ Principe

La galerie API 20 NE comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux (Abessa et Tabet, 2014).

✓ Mode opératoire

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

✓ préparation de la galerie

- Incrire la référence de la souche sur languette latérale du biote.
Réunir fond et couvercle du biote d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée pour créer une atmosphère humide.
- Sortir la galerie de son emballage individuel et la placer dans la boîte d'incubation (Aouissi, 2010).

✓ Préparation de l'inoculum

- À partir d'une culture jeune (18-24h), on réalise une suspension bactérienne dans l'eau distillée stérile.
- Mettre 0.2 ml de suspension bactérienne à l'aide d'une pipette dans l'API medium (Abessa et Tabet, 2014).

✓ **L'inoculation de la galerie**

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG.
- Les tests GLU, ADH, URE vont être complétés avec l'huile de vaseline.
- Remplir les tubes et les cupules des tests de |GLU| à |PAC|.
- La boîte d'incubation est refermée et incubée à 37°C pendant 24h pour une première lecture et 48h pour une deuxième lecture. (Fartes *et al.*, 2015).

✓ **Lecture et interprétation**

- Les résultats doivent être notés sur la fiche de résultat.
- La lecture se fait à l'aide d'un tableau de lecture et d'un logiciel d'identification (Abessa et Tabet., 2014).

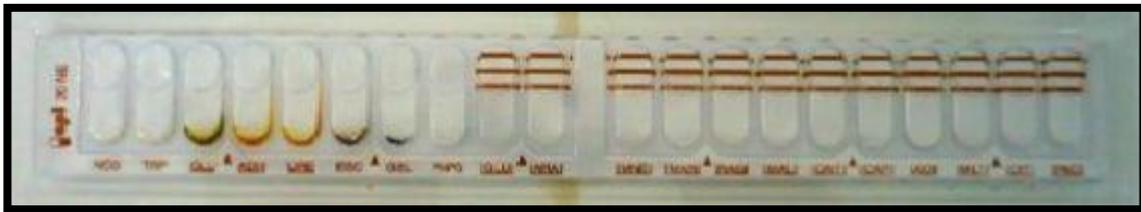


Figure 29: API 20 NE.

❖ **La galerie API Staph**

• **Principe**

La galerie API Staph comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux (Aouissi, 2010) (Fig.30).

• **Mode opératoire**

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

• **préparation de la galerie**

- Inscrire la référence de la souche sur languette latérale du biote.
- Réunir fond et couvercle du biote d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée pour créer une atmosphère humide.
- Sortir la galerie de son emballage individuel et la placer dans la boîte d'incubation. (Aouissi, 2010).

✓ Préparation de l'inoculum

A l'aide d'une anse de platine on prélève 2 ou 3 colonies et on les ensemence dans l'ampoule d'Api medium. (Fartas *et al.*, 2015).

✓ L'inoculation de la galerie

- A l'aide d'une pipette remplir les tubes de la galerie avec API Staph Medium ensemencé des tests NO₃ à PNPG. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube.
- Les tests ADH, URE vont être complété avec l'huile de vaseline.
- Renfermer la boîte d'incubation puis incubé à 37°C pendant 24 heures. (Fartas *et al.*, 2015).

➤ Lecture et interprétation

- Les résultats doivent être notés sur la fiche de résultat.
- La lecture se fait à l'aide d'un tableau de lecture et d'un logiciel d'identification. (Aouissi, 2010).



Figure 30: API Staph.

❖ La galerie API C AUX

• Principe

La galerie API C AUX comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. (Aouissi, 2010) (Fig.31).

• Mode opératoire

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

✓ Préparation de la galerie

- Inscrire la référence de la souche sur languette latérale du biote.
- Réunir fond et couvercle du biote d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée pour créer une atmosphère humide.

- Sortir la galerie de son emballage individuel et la placer dans la boîte d'incubation (Aouissi, 2010).

✓ **Préparation de l'inoculum**

A l'aide d'une anse de platine on prélève 2 ou 3 colonies et les ensemence dans l'ampoule d'API AUX medium. (Aouissi, 2010).

✓ **L'inoculation de la galerie**

- A l'aide d'une pipette remplir tous les tubes de la galerie avec API AUX Medium ensemencé
- Renfermer la boîte d'incubation puis incubé à 29°C pendant 48 heures (Aouissi, 2010).

❖ **Lecture et interprétation**

- Les résultats doivent être notés sur la fiche de résultat.
- La lecture se fait à l'aide d'une comparaison par rapport au témoin 0 (présence de trouble= résultat + / absence de trouble= résultat -) et d'un logiciel d'identification (Fartes *et al.*, 2015).

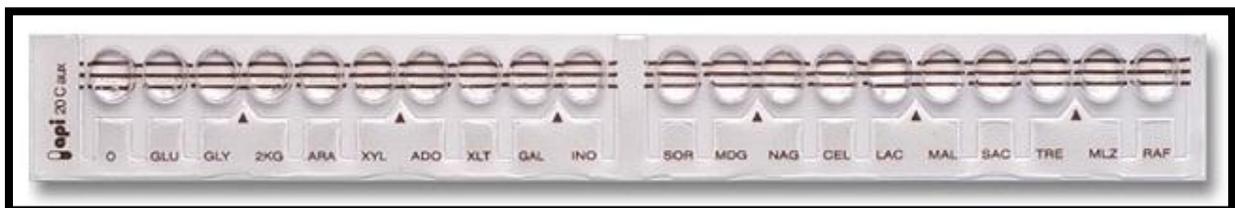


Figure 31: API C AUX.

Résultats

et

discussion

Résultats et Discussion

Résultats

- Les résultats de recherche des germes indicateurs de contamination fécale dans les boues liquide avant et après traitement aux Nanoparticules d'argent (NAg) sont représentés dans le tableau 4

Tableau 4: Résultats de dénombrement des bactéries indicatrices de contamination dans les boues liquide avant et après traitement aux nanoparticules d'argent (NAg).

Germes	L'état des boues	prélèvements		
		1	2	3
<i>Germes totaux</i> FAM UFC/ml	Avant traitement	2000	1500	1000
	Après traitement	60	70	90
<i>Coliformes totaux</i> CT/ml	Avant traitement	140	140	140
	Après traitement	0.7	2.0	0.6
<i>Coliformes fécaux</i> CF/ml	Avant traitement	140	140	140
	Après traitement	0.3	0.6	0.3
<i>Streptocoques fécaux</i> UFC/ml	Avant traitement	140	140	110
	Après traitement	0.6	0.7	0.6
ASR UFC/ml	Avant traitement	indénombrable	indénombrable	indénombrable
	Après traitement	indénombrable	indénombrable	indénombrable

- Les valeurs enregistrées pour la Flore mésophile aérobie totale sont illustrés dans la figure (32). Alors que le nombre de colonies estimé sur gélose TGEA de la flore mésophile totale atteint entre 1000 à 2000 UFC/ml dans les boues liquides prélevées durant les 3 prélèvements, après traitement aux NAg, les valeurs enregistrées diminuent jusqu'à 60 UFC/ml pour le premier prélèvement, 70 UFC/ml pour le deuxième prélèvement et 90UFC/ml pour le troisième prélèvement donc une moyenne de 73 UFC/ml.

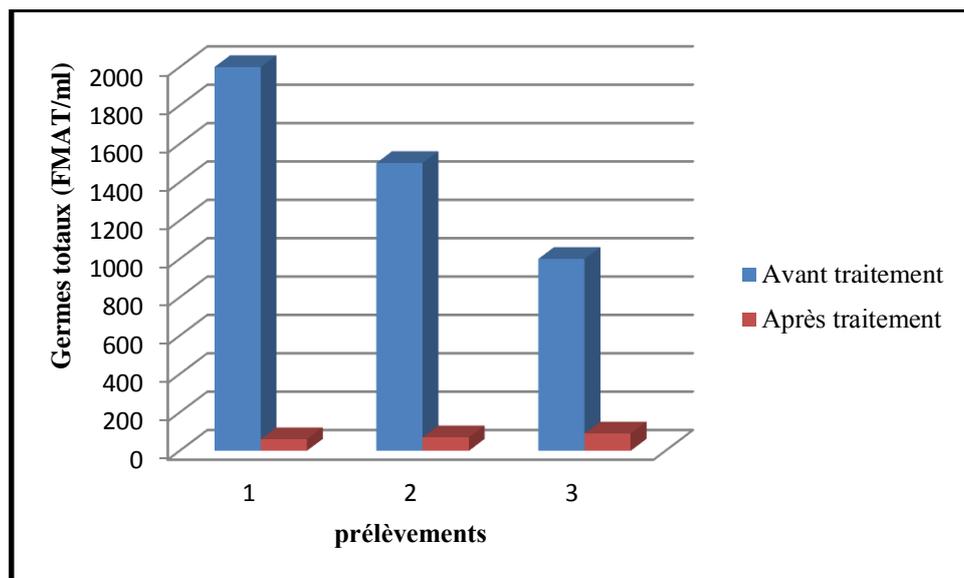


Figure 32: Représentation graphique des Germes totaux FAM avant et après traitement aux NAg.

- Les figures 33 et 34 représentent les résultats du dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans les boues liquide avant et après traitement aux NAg par la méthode du nombre le plus probable (NPP). La valeur enregistrée est de 140 CT et (CF) /ml pour tous les prélèvements effectués des boues liquides résiduaires, après traitement on observe une diminution qui atteint jusqu'à 0.6 CT/ml et de 0.3 CF/ml comme une valeur minimale.

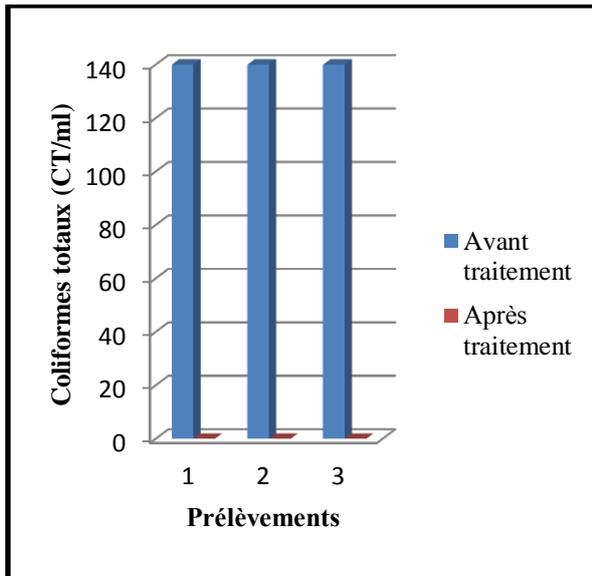


Figure 33: Représentation graphique des Coliformes totaux avant et après traitement aux NAg.

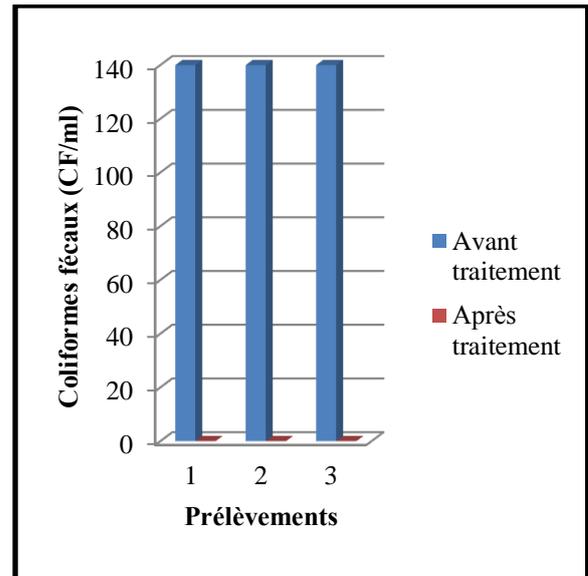


Figure 34: Représentation graphique des Coliformes fécaux avant et après traitement aux NAg.



Escherichia coli

- En ce qui concerne les streptocoques fécaux, une concentration de 140 ST/ml est enregistrée pour l'ensemble des prélèvements avant traitement, après traitement aux NAg, on remarque une diminution qui atteint 0.6 ST/ml pour le premier et troisième prélèvement et 0.7 ST/ml pour le deuxième prélèvement (**fig.35**).

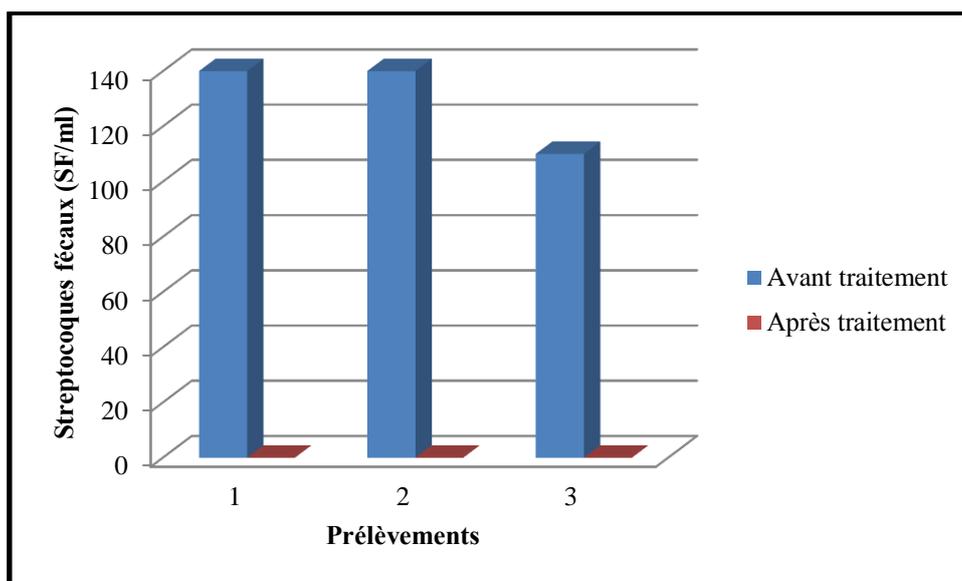


Figure 35: Représentation graphique des Streptocoques fécaux avant et après traitement aux NAg.

- Le nombre des ASR est indénombrable pour l'ensemble des prélèvements avant traitement. Après traitement aux NAg e nombre est indénombrable.
- Concernant les *streptomyces* (**Tableau 5**), les valeurs enregistrées avant traitement sont : 250UFC/ml, 600UFC/ml et 140UFC/ml. Après traitement aux NAg, on observe une élimination totale de ces germes qui sont important au sol puisque elles font partie de la flore tellurique (**fig.36**).

Tableau 5 : Résultats de dénombrement des *streptomyces* dans les boues résiduairees avant et après traitement aux NAg.

<i>Streptomyces</i> UFC/ml	Avant traitement	250	600	140
	Après traitement	00	00	00

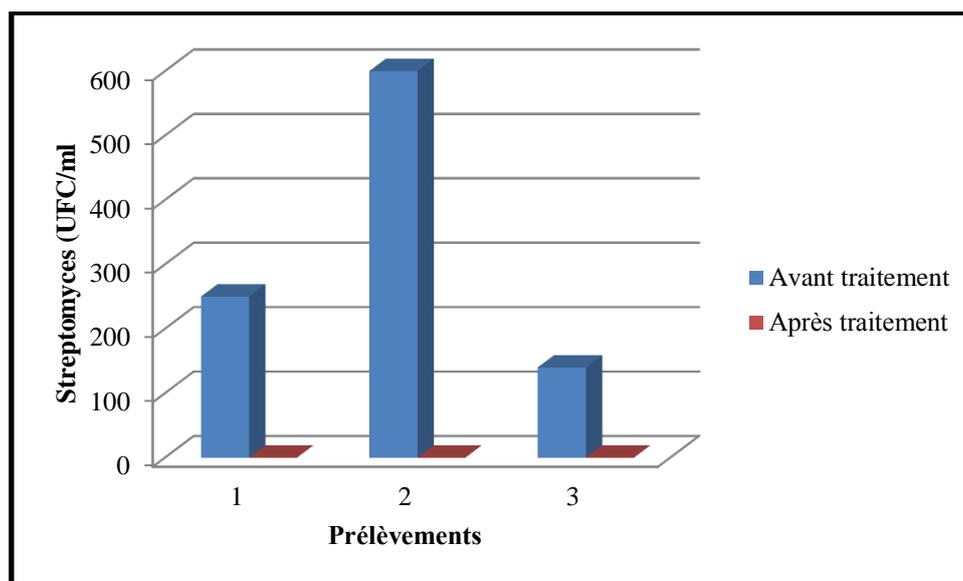


Figure36: Représentation graphique des *Streptomyces* avant et après traitement aux NAg.

- Les résultats de recherche et de dénombrement des germes pathogènes dans les boues résiduaire liquides de la station de traitement avant et après traitement aux nanoparticules d'argent (NAg) sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6: Résultats du dénombrement des bactéries pathogènes dans les boues résiduaire liquide avant et après traitement aux nanoparticules d'argent (NAg).

germes	l'état des boues	prélèvements		
		1	2	3
<i>Salmonelles</i> UFC/ml	Avant traitement	40	30	32
	Après traitement	9	5	10
<i>Shigelles</i>	Avant traitement	90	65	110
	Après traitement	25	30	35
<i>Staphylocoques</i> UFC/ml	Avant traitement	874	988	804
	Après traitement	00	00	00
<i>Vibrio chlorique</i> UFC/ml	Avant traitement	150	240	100
	Après traitement	00	00	00

<i>Pseudomonas</i> UFC/ml	Avant traitement	96	115	140
	Après traitement	00	00	00
Levures UFC/ml	Avant traitement	120	160	180
	Après traitement	20	42	37

- Pour les Salmonelles, leur nombre est compris entre 32 UFC/ml et 40UFC/ml. Après traitement aux NAg, leur nombre est réduit à (5UFC/ml-10UFC/ml), l'espèce qui était identifiée est : *Salmonella arizonea* (Fig.37).

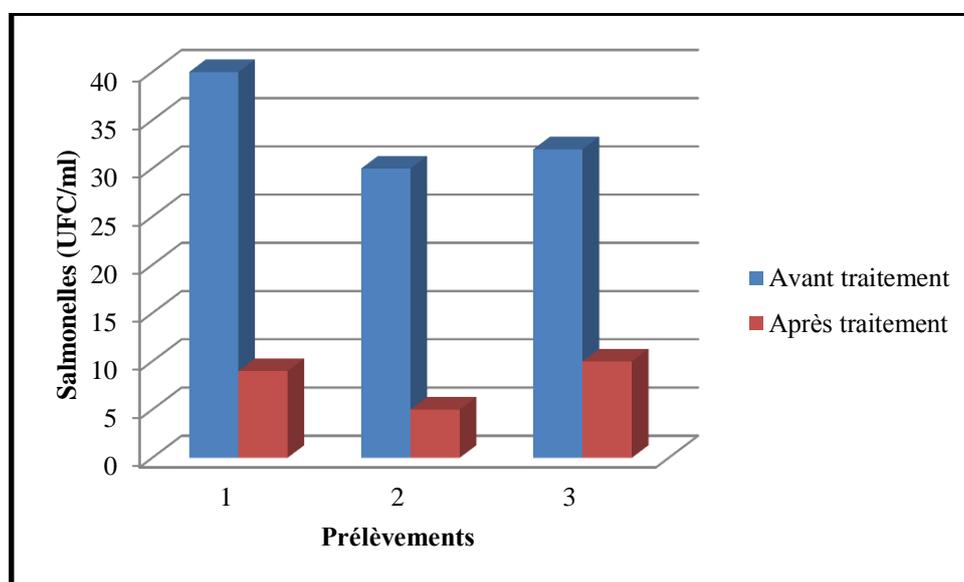


Figure 37: présentation graphique des Salmonelles avant et après traitement aux NAg.



Salmonella arizonea

- On observe une présence à forte concentration des staphylocoques dans les boues non traitées entre 804 UFC/ml à 988 UFC/ml, les genres représentatifs identifiés dans ces boues liquides résiduaire sont *staphylocoques xylose* et *staphylocoques aureus*. Après traitement aux NAg, on constate une disparition de ces germes (fig.38)

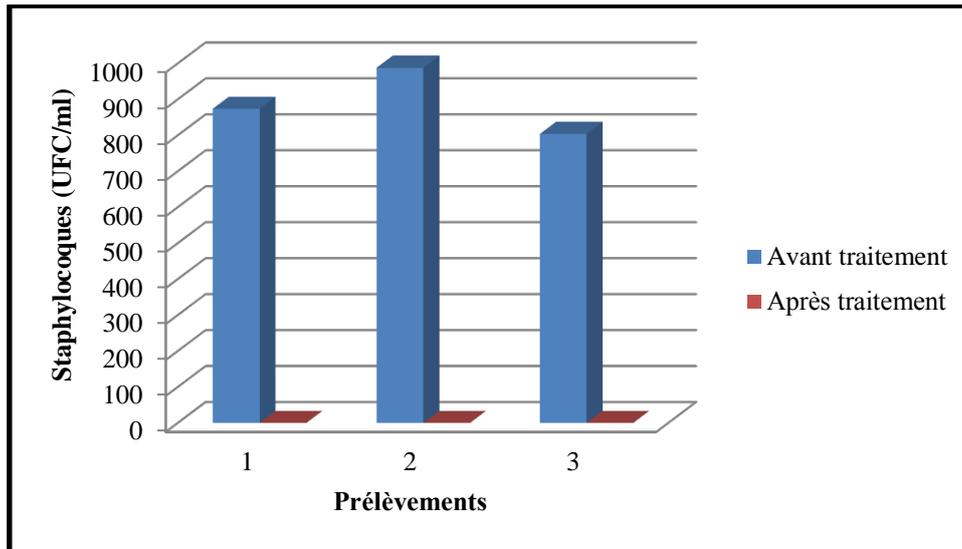
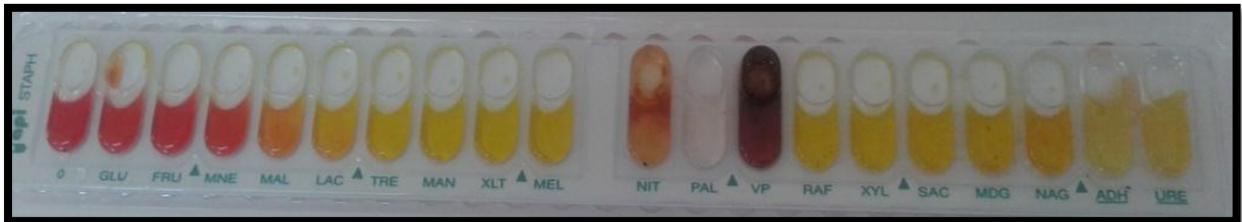


Figure 38: Représentation graphique des *Staphylocoques* avant et après traitement aux NAg.



Staphylococcus xylosum



Staphylococcus aureus

- Pour le genre *Pseudomonas* son existence est moyenne dans les boues résiduaires entre 96UFC/ml et 140UFC/ml les espèces présentes sont *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas fluorescens*. Après traitement aux NAg, on observe une élimination totale (**fig.39**) de ce genre.

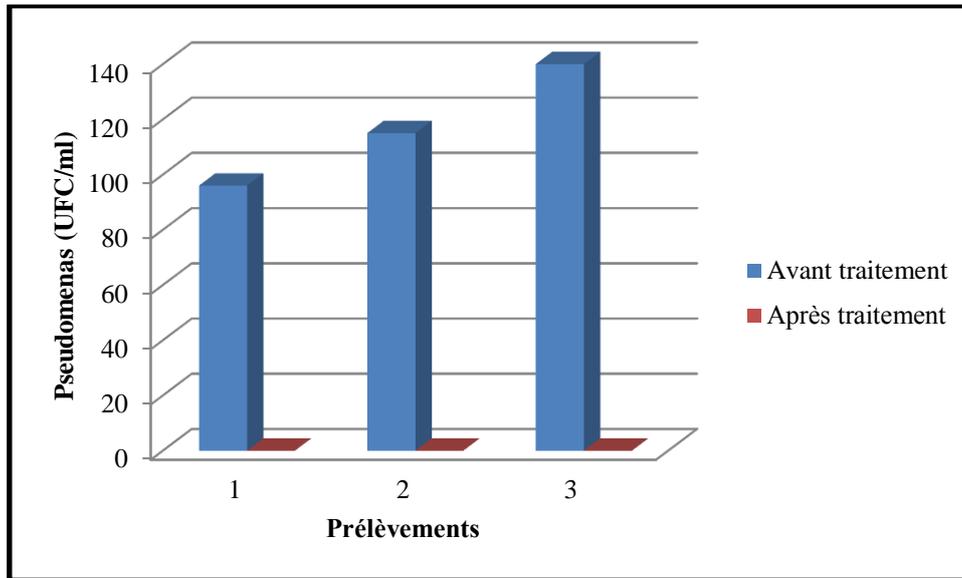


Figure 39: Représentation graphique des *Pseudomonas* avant et après traitement aux NAg.



Pseudomonas fluorescens



Pseudomonas luteola

- Concernant les vibrios les valeurs sont comprises entre 100 UFC/ml et 240 UFC/ml dans les boues résiduaire non traitées (*Vibrio cholerae*) Après traitement aux NAg, on remarque une diminution de la charge qui atteint une moyenne de 20 UFC/ml, 42UFC/ml et 67UFC/ml pour les 3 prélèvements respectivement (fig40).

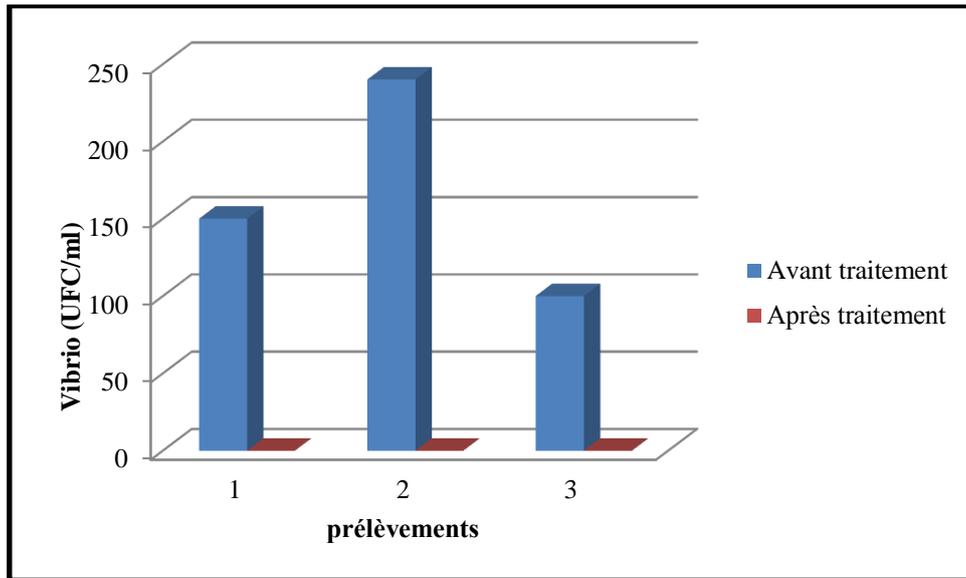


Figure 40: Représentation graphique des *Vibrio chlorique* avant et après traitement aux NAg.



Vibrio cholerae

- En ce qui concerne les levures, les valeurs sont comprises entre 120UFC/ml et 180UFC/ml avant traitement Les espèces représentatives identifiées étaient *candida parapsilosis*, *Cryptococcus albidus*., le nombre est réduit jusqu'à 20UFC/ml après traitement aux NAg (**fig.41**).

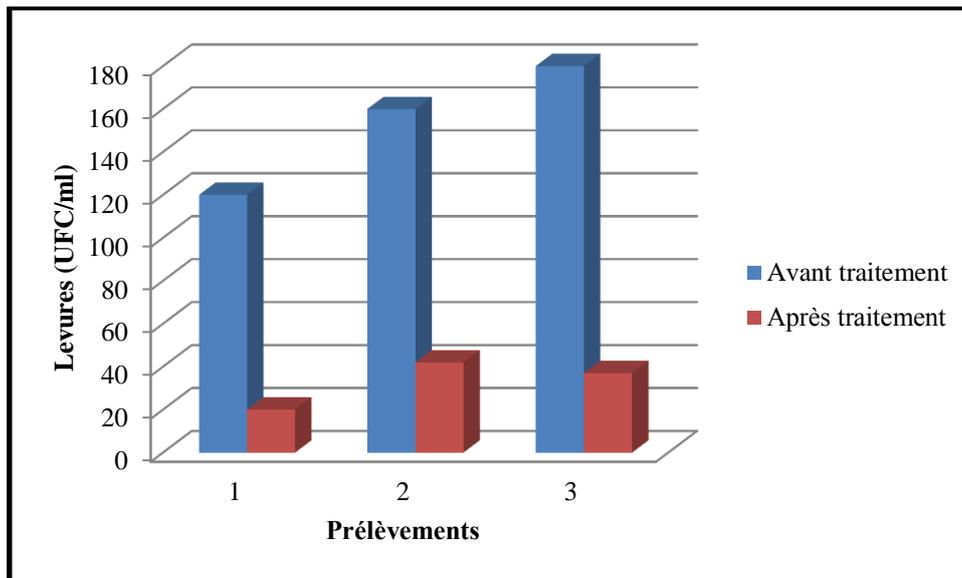
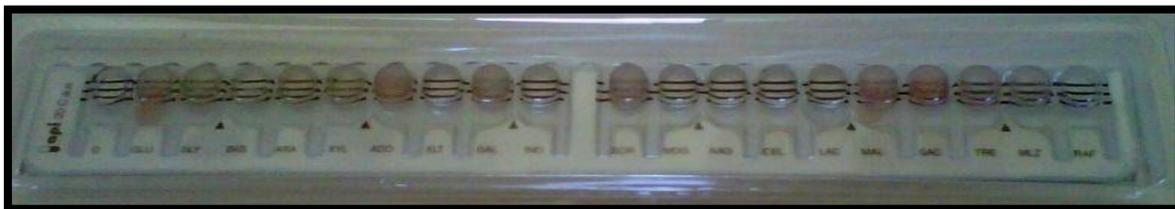


Figure 41: Représentation graphique des levures avant et après traitement aux NAg.



Candida parapsilosis



Cryptococcus albidus

Discussion

Pour les germes totaux, les valeurs enregistrées varient entre 1000 UFC/ml et 2000UFC/ml, ce nombre de la (FMAT) qui est important peut indiquer la présence des germes pathogènes. Ces germes n'ont pas d'effet directs sur la santé mais sous certaines conditions, ils peuvent générer des problèmes. Ce sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique (centre collaborant de l'OMS, 2007). Après traitement des boues aux NAg on observe une diminution de la charge de (FMAT) avec un pourcentage de 99%, ce pourcentage d'abattement de la FMAT peut s'expliquer par l'effet catalyseur des NAg qui a été l'origine de la diminution de la teneur de la matière organique qui inhibe par conséquent la multiplication bactérienne (**Gebrati et al. 2010**).

Pour les bactéries indicatrices de la contamination fécale, Les valeurs enregistrées pour les coliformes totaux avant traitement aux NAg est de 140 CT/ml. Ces résultats Concordent à ceux de Boucheleghem et Bouregaa, 2015 dans l'eau usée brute avant traitement, et ceux de Fartas *et al*, 2015 dans les boues liquide. La présence des coliformes totaux dans les eaux traitées ou leur dépassement par rapport aux normes règlementaires n'implique pas nécessairement un risque pour la santé publique, en effet, la plupart des espèces de ce groupe se trouvent naturellement dans le sol ou la végétation (**Edberg et al, 2000**), ils peuvent être indirectement associé à une pollution d'origine fécale (**Rodier, 2009 ; Barthe et al.,1998**).Les valeurs des coliformes fécaux d'origine fécale enregistrées reste supérieur aux normes de l'OMS (1000 germes/100 ml) (**OMS, 1989**).Après traitement par les NAg le rendement d'épuration est de 99.9%pour les coliformes tandis que celui obtenu par Bouchelaghem et Bouregaa était de 100% dans l'eau usée traitée par les NAg.

Les streptocoques fécaux sont aussi un excellent indicateur de contamination fécale, Leur nombre est atteint 140 SF/ml dans les boues d'épuration. Après traitement par les nano argent le nombre est diminué jusqu'à 0.7SF/ ml. Ces résultats sont en accord avec Bouchlaghem et Bouregaa, 2015.

A partir du rapport quantitatif R (CF/SF) est égal 1, l'origine de la contamination fécale est donc mixte animale et humaine avec une prédominance humaine selon Borrego et Romero, 1982. Tandis que le rapport obtenu dans les travaux de Bouchleghem et Bouregaa, 2015. était de inférieure à 4 ce indiquant aussi une contamination mixte à prédominance humaine pour les eaux brutes (**tableau 7**).

Tableau7 : Détermination du rapport quantitatif.

	Prélèvement 1	Prélèvement 2	Prélèvement 3
CF	140	140	140
SF	140	140	140
CF/SF	1	1	1

Les anaérobies sulfito-réducteurs ces germes reconnus par la résistance de leurs spores, les ASR réduisent les sulfites en sulfures. Comme un témoin de pollution fécale on prend les *Clostridium* sulfito-réducteurs, ces germes se trouvent dans les boues avec une forte concentration des travaux. Le rendement d'élimination des ASR par NAg est de pourcentage d'abattement de 90% nos résultats sont accordés avec ceux de Souiki, 2008; Boucheleghem et Bouregaa, 2015.

Les *Streptomyces* qui se multiplient dans le milieu GELM, sont les principaux acteurs de traitement des eaux usés par les boues activées qui permettent la dégradation de matière organique. Les boues résiduaires présentent donc une concentration importante entre 140 UFC/ml et 600 UFC/ml durant notre étude. Ces germes sont des bactéries saprophytes importantes dans le sol et ont un effet bénéfique important dans le domaine industriel et agroalimentaire. Le traitement des boues par les NAg conduit à leur élimination à 100% (Tidiane, 2011).

La recherche des germes pathogènes dans les boues de STEP du Guelma montre une existence de *Salmonella arizona* et *Vibrio cholerae* dans les boues avant traitement. Ces résultats ne correspondent pas aux normes de l'OMS qui exigent une absence absolue de ces germes dans les boues, nos résultats concordent avec les résultats de Fartas *et al*, 2015, Abassa et Tabat, 2014. Qui mentionnent la présence de ces espèces dans les boues liquides. Le pourcentage d'abattement pour les salmonelles et les vibrio est de est 80% après traitement aux NAg. La présence des *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus albidus* dans les boues non traitées. Ces résultats ne correspondent pas aux normes de l'OMS qui exigent une absence absolue de ces germes dans les eaux destinées a l'irrigation des cultures maraichères (OMS, 1989). D'autres travaux concordent à nos résultats, ceux d'Abassa et Tabat 2014 et Fartas *et al* 2015. Après traitement aux NAg, ces germes disparaissent et nos résultats sont en

accord avec les résultats de Bouchelegem et Bouregaa, 2015 qui mise en évidence l'absence de ces germes dans les eaux brutes après traitement aux NAg.

La recherche des *Pseudomonases* a mise en évidence les espèces suivantes : *Pseudomonas fluorescens*; *Pseudomonas luteola*. L'existence de ces germes est a faible charge et elle ne correspond pas aux normes de l'OMS qui exige l'absence absolu de ces germes nos résultats concordent avec d' Abassa et Tabat, 2014, Fartas *et al*, 2015. Après traitement des boues par NAg on observe une élimination totale de ces germes. Nos résultats sont en accord avec des travaux récents Zhang, 2003 qui mettre en évidence l'effet biocides de NAg.

En ce qui concerne la recherche des levures dans les boues, en trouvons une charge moyenne entre 140UFC/ml et 160 UFC/ml. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Fartas *et al*, 2015. Après traitement par NAg, on remarque une diminution de ces germes dans le milieu Sabouraud a une concentration qui atteint jusqu'à 30 UFC/ml ce qui peut expliquer par l'effet fongicide des NAg.

L'existences des certaines micro-organismes après traitement par nano argent peut expliquer par la concentration de 0,25mM n'a pas aboutit à élimination de ces germes.

Conclusion

Conclusion

L'utilisation des boues exige l'importance d'une surveillance microbiologique avant les pendages, notre étude microbiologique des boues de la STEP de Guelma, montre que les boues liquides sont très chargées en différents types de microorganismes indicateurs de contamination et des germes pathogènes tels que: *Salmonella arizona*, *Vibrio cholerae*, *Entérobacter cloacae*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas fluorescens*, *Chryseomonas luteola*, *Candida parapsilosis*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus aureus* et *Cryptococcus albidus*.

Le traitement effectué par les NAg de nature liquide permet une diminution importante ou l'élimination totale de microorganismes présents dans la boue à 99% pour la plupart des bactéries sauf les ASR.

L'existence de ces germes pathogènes indique la nécessité d'installer un traitement efficace en vue d'éliminer les germes pathogènes sans détruire la flore saprophyte tels que les *Streptomyces* avant l'utilisation de ces boues en agriculture.

Références Bibliographiques

Bibliographie

- **Abessa R., Tabet S., (2014).** Étude microbiologique et génotoxique des boues des eaux usées de la ville de Guelma. Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma. 101p.
- **Abidi S., Razkallah Z., Zerari A., (2013).** Étude de la qualité bactériologique des eaux de quelques zones humides de complexe de Gurbes-Sanhadja (Wilaya de Skikda). 70p.
- **ADEME., (2007).** Evaluation des risques sanitaires des filières d'épandage des boues de station d'épuration : Introduction générale, ADEME/SYPREA/FP2E/INERIS. convention 0375C0093 et 0675C0071. Version 1. 33p.
- **AFSSA., (2008).** Les nanoparticules manufacturées dans l'eau. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. 32p.
- **Ait Hamlet., (1998).** Contribution à l'étude de la wilaya d'EL Teref : aspects microbiologiques et écologiques. Mémoire de Magister en microbiologie appliquée. Université d'Annaba Algérie. 150 p.
- **AMORCE., (2012).** Boues de station d'épuration : technique, valorisation et élimination Technique DT 51. 36p.
- **Aouadi H., (2007).** Le procédé de traitement biologique par boues activées, Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologique, université 8 mai 1945 de Guelma. 50p.
- **Aouissi A., (2010).** Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie). Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Magister. Université. 8 Mai de Guelma.164p.
- **Bazine N., Bourenane A., (2011).** Evaluation de la qualité bactériologique des eaux de l'Oued Messida. Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma. 98p.
- **Belahmadi M., (2011).** Étude de la biodégradation du 2,4- dichlorophénol par le microbiote des effluents d'entrée et de sortie de la station d'épuration des eaux usées d'ibn ziad. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de magister en microbiologie appliquée et biotechnologies microbiennes. Université mentouri-Constantine. 83p.

-
- **Bouchaala L., (2010).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oued-Zénati (Guelma). Mémoire de magister. Université 8 Mai 1945 de Guelma. 135p.
 - **Boucheleghem A., Bouregaa M., (2015).** Evaluation de la qualité des eaux usées (Wilaya de Guelma) après traitement par différents procédés (Station d'épuration, Nanoparticules et les lentilles d'eaux). Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma. 69p.
 - **Brahmia., Zouaimia., (2013).** Contribution à l'étude de la qualité bactériologique et physicochimique de l'eau de l'Oued-Zimba (Guelma). Mémoire De Master. Université 8 Mai 1945 de Guelma.149 p.
 - **Canler J.P., Perret J.M., (2013).** La réduction de boues par voie biologique par le procédé Mycet, Document technique N° 39, Département Ecotechnologie, Thème de recherche TED E, Unité de recherche Milieux Aquatique, Ecologie et Pollutions Centre de Lyon 5, rue de la Doua CS 70077 69626 Villeurbanne Cedex. 51p.
 - **Chibani S., (2010).** Analyses physico-chimique et rhéologique des boues d'épuration des eaux usées de la ville de Guelma., mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de magister en génie des procédés. université 8 mai 1945 de Guelma. 122p.
 - **Cindy b., (2007).** Procède a boues activées pour le traitement d'effluents papetiers : de la conception d'un pilote a la validation de modèles, thèse pour obtenir le grade de docteur de l'inp Grenoble, institut national polytechnique de Grenoble. 227p.
 - **Comité Sécurité Alimentaire d'APRIFEL., (2001).** Les boues d'épuration document de synthèse, comité sécurité alimentaire d'aprifel. 26p.
 - **Délaras., (2000).** Microbiologie De L'environnement Avec Législation Gaëtan Morin Editeur. 223p.
 - **Délaras C., Trebaol B., (2003).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux: Réglementation - prélèvements - analyses. TEC & DOC. 269p.
 - **DJEDDI H., (2006).** Utilisation des eaux d'une station d'épuration pour l'irrigation des essences forestières urbaine. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Écologie et Environnement. Université Mentouri Constantine. 136p.
 - **Emilie J., (2002).** Composition organique de boues résiduaires de stations d'épuration lorraines: caractérisation moléculaire et effets de la biodégradation. Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy 1 en Sciences de l'univers, Université Henri Poincaré, Nancy 1. 271p.

-
- **Fartas K., Laouissi H., Zouaimia S., (2015).** Etude microbiologique des boues des eaux usées de la ville de Guelma. Mémoire de Master. Université 8 Mai de Guelma. 69p.
 - **Gillespie S.H., Hawkey P.M., (2006).** Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2^{ème} édition. John Wiley & Sons. England. 620 p.
 - **Guerfi Z., (2012).** Impact de l'utilisation des boues résiduaires sur les propriétés physico-chimique des sols de la haute Vallée de la Medjerda wilaya de souk ahras. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magistère en écologie et environnement Les boues primaires, Université Badji-Mokhtar Annaba. 77p.
 - **Guide., (2007).** Contrôle et suivi de la qualité des eaux usées protocole de détermination des paramètres physico-chimique et bactériologique. 52p.
 - **Guide., (2013).** Station d'épuration des eaux usées: prévention des risques biologiques. 1^{er} édition. L'institut national de recherche et de sécurité (INRS). 27p.
 - **Guiraud J.P., (1998).** microbiologies alimentaire. RIA Dunod.696p.
 - **Hatem D., (2008).** Les procédés biologiques d'épuration : Traitement des Eaux Usées Urbaines. Université Virtuelle de Tunis. p30.
 - **INERIS., (2014).** Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Argent et Nano-argent, DRC-14-136881-07002A. 44 p.
 - **Jean M., Jack M., Jean P., (2001).** Boues de station d'épuration municipales : Les enjeux et leur utilisation en agriculture. 20p.
 - **Joffin J., Leyrol G., (2001).** Microbiologie technique 1: dictionnaire des techniques, 3ème édition .CRDP d'aquitaine. 320p.
 - **Karaali R., Khettal M., Reggam R., (2008).** Etude comparative de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux usées avant et après épuration : Cas de la station d'épuration de la ville de Guelma (Nord-est Algérien). Mémoire d'ingénieur. Université 8 Mai de Guelma. 110p.
 - **Karoune S., (2008).** Effets des boues résiduaires sur le développement des semis du chêne liège (*Quercus suber* L.). Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de magistère En Écologies Végétale. Université Mentouri Constantine. 198p.
 - **King S., Metzger W., (1986).** A New Plating Medium for the Isolation of Enteric Pathogens: I. Hektoen Enteric Agar. Applied and Environmental Microbiology. 578.
 - **Koller M., (2009).** Traitement des pollutions industrielles. 2^{ème} édition Dunod. 566p.

-
- **Lebres E., (2002).** Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments « Microbiologie des eaux, des boissons et des produits de la mer ». Institut Pasteur d'Algérie. 34 p.
 - **Lebres E., (2006).** Cours D'hygiène et De Microbiologie Des Eaux (Manuel De Travaux Pratiques Des Eaux). Institut Pasteur d'Algérie. 60p.
 - **Lebres., Mouffok., (2008).** Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. Institut Pasteur d'Algérie. 53p.
 - **Léon M., (2012).** Traitement des eaux usées par macrophytes. Édition universitaires européennes. 78p.
 - **Marc M., (1997).** Impacts des boues d'épuration *sur* la microflore des sols, développement d'une méthode de détection microbienne pour des échantillons de sol et différenciation des espèces *streptomyces ca wscabies* et *strlfptomyces scabies*. mémoire présenté au département de biologie en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (m. sc.) université de sherbrooke canada. 137p.
 - **Marie S., (2006).** Dynamique, réactivité et écotoxicité des nanoparticules d'oxydes métalliques dans les sols : impact sur les fonctions et la diversité des communautés microbiennes. Diplôme de Doctorat en Biologie. Université de Lyon. 188P.
 - **Mechai A., (2009).** Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: Etudes physiologiques et biochimiques. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba. 160 p.
 - **Navoun S., (2005).** Thermorésistante de trois sérotypes de salmonella dans l'œuf et les gésiers de poulets. Université Cocody d'Abidjan. 87p.
 - **Ophélie Z., (2008).** Études des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Thèse de doctorat de l'université Paris VI - Pierre et Marie Curie École doctorale physique et chimie des matériaux. 321p.
 - **Pilet C., Bourdon J.L., Toma B., Marchal N., Balbastre C., Person J.M., (1987).** Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne. Doin. France. 371 p.
 - **Rachel B., (2012).** Spéciation chimique des nanoparticules d'argent dans les sols. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales en vue de l'obtention du grade de Maîtrise en Chimie. Université de Montréal. 56p.
 - **Rejesk F., (2002).** « Analyse des eaux ; aspects réglementaires et techniques » ; centre régional de documentaires techniques pédagogique d'aquitaine. 358p.

- **Rodier J., (2005).** L'analyse De L'eau ; Eaux Naturelles, Eaux Résiduelles, Eaux De Mer. 8ème édition. *Dunod*.1383 p.
- **Rodier J., (2009).**l'analyse de l'eau : eau naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 9^{ème} édition. *Dunod*. Paris. 1579p.
- **Telli S., (2013).** Etude sur la valorisation par séchage solaire Des boues d'épuration des Eaux urbaines – cas de la station d'Office Nationale d'Assainissement (ONA)-Tlemcen. Mémoire Pour l'Obtention du Diplôme du Master Génie énergétique et environnement. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen. 164p.

Sites Web

1. <http://www.futura-sciences.com/magazines/maison/infos/dico/d/maison-eau-usee-10647/>(consulté le 05.05.2016)
2. <http://www.aquaportail.com/definition-4163-effluent.html> (consulté le 11.05.2016)
3. <http://ecoledeleau.eau-artois-picardie.fr/spip.php?rubrique65> (consulté le 11.05.2016)
4. <http://www.alloprof.qc.ca/BV/pages/s1467.aspx> (consulté le 11.05.2016)
5. <http://www.haute-marne.chambagri.fr/kit/environnement-energie/boues.html> (consulté le 15.05.2016)
6. <http://www.electrocolloidal.com/2010/03/30/une-etude-parmi-tant-dautres-effectuee-par-des-chercheurs-sur-les-nanoparticules-dargent/> (consulté le 20.05.2016)
7. <http://veillenanos.fr/wakka.php?wiki=NanosEtStationsEpuracion> (consulté le 03.06.2016).
8. <https://www.agrireseau.net/nanotechnologies-bioalimentaire/documents/87625>(consulté le 04.06.2016).

Annece

Annexe I

Tableau4: Résultats de dénombrement des bactéries indicatrices de contamination dans les boues liquides avant et après traitement aux nanoparticules d'argent (NAg).

Germe	L'état des boues	prélèvement		
		1	2	3
<i>Germes totaux</i> FAM UFC/ml	Avant traitement	2000	1500	1000
	Après traitement	60	70	90
<i>Coliformes totaux</i> CT/ml	Avant traitement	140	140	140
	Après traitement	0.7	2.0	0.6
<i>Coliformes fécaux</i> CF/ml	Avant traitement	140	140	140
	Après traitement	0.3	0.6	0.3
<i>Streptocoques fécaux</i> UFC/ml	Avant traitement	140	140	110
	Après traitement	0.6	0.7	0.6
ASR UFC/ml	Avant traitement	indénombrement	indénombrement	indénombrement
	Après traitement	indénombrement	indénombrement	indénombrement
<i>Streptomyces</i> UFC/ml	Avant traitement	250	600	140
	Après traitement	00	00	00

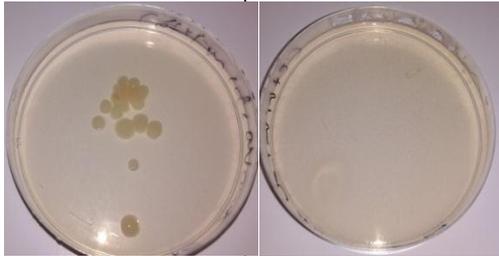
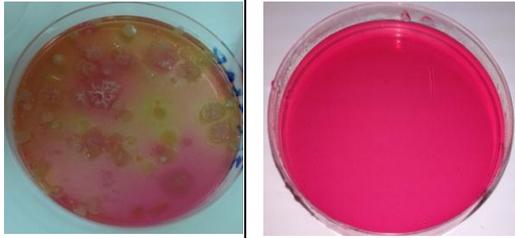
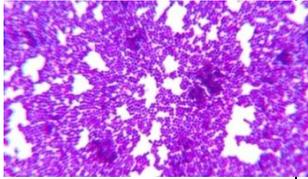
Tableau 5: Résultats du dénombrement des bactéries pathogènes dans les boues résiduaires liquides avant et après traitement aux nanoparticules d'argent (NAg).

germes	l'état des boues	prélèvements		
		1	2	3
<i>Salmonelles</i> UFC/ml	Avant traitement	40	30	32
	Après traitement	9	5	10
<i>Shigelles</i> UFC/ml	Avant traitement	90	65	110
	Après traitement	25	30	35
<i>Staphylocoques</i> UFC/ml	Avant traitement	874	988	804
	Après traitement	00	00	00
<i>Vibrio chlorique</i> UFC/ml	Avant traitement	150	240	100
	Après traitement	00	00	00
<i>Pseudomonas</i> UFC/ml	Avant traitement	96	115	140
	Après traitement	00	00	00
Levures UFC/ml	Avant traitement	120	160	180
	Après traitement	20	42	37

Tableau 6: Détermination du rapport quantitatif.

	Prélèvement 1	Prélèvement 2	Prélèvement 3
CF	140	140	140
SF	140	140	140
CF/SF	1	1	1

Tableau 7: Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées.

culture		Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
Avant traitement par les nanoparticules d'argent	Après traitement par les nanoparticules d'argent	Avant traitement par les nanoparticules d'argent	
VF 		colonie noire d'environ 0,5 mm de diamètre, poussant en masse.	Bacille à gram (-)
Cétrimide 		Colonies moyennes, bombées, lisses, à couleur jaune.	Bacille pyocyanique à gram (-)
Chapman 		Colonies petites et moyennes, plus au moins plates, lisses, opaques, crémeuses, à contour régulier, de couleur blanche et jaune.	Cocci groupés en amas à gram (+) 

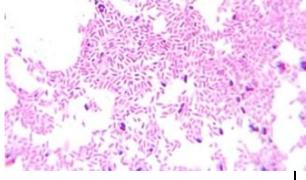
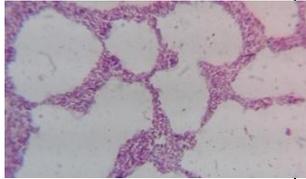
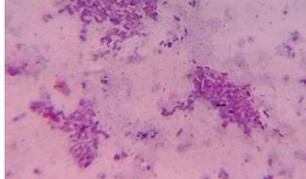
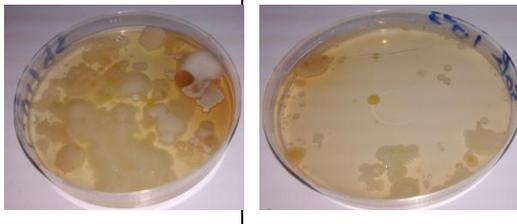
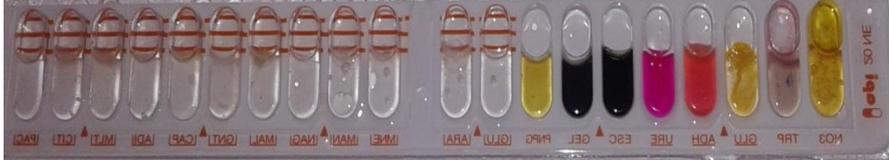
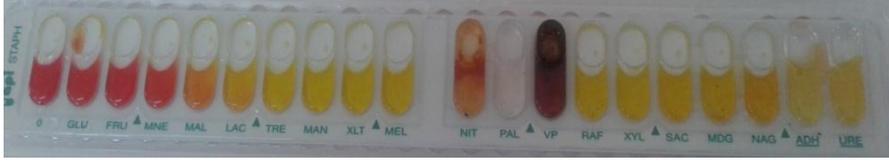
<p>Hectoen</p> 		<p>Petites colonies bombées à contour régulier, soit pigmenté en jaunes.</p>	<p>Bacille à gram (-)</p> 
<p>SS</p> 		<p>- colonies lisses, Brillantes, à surface sèche rugueuse -colonies incolores à jaune pâle avec ou sans centre noir. -colonies incolores à rose-pâle ou orangées sans centre noir.</p>	<p>Bacille à gram (-)</p> 
<p>GNAB</p> 		<p>Colonies petites et moyennes, plus au moins plates, lisses, à contour régulier, transparente ou blanche.</p>	<p>Bacille à gram (-)</p> 
<p>Sabouraud</p> 		<p>Colonies circulaires, bombées et blanchâtres. Forme variable, ronde allongée et couleur crème.</p>	<p>Cocci gram+</p>

Tableau 8: Résultats de l'identification biochimique par les API systèmes des germes isolés.

API système	Milieu de culture	Espèce identifiée
API 20E	SS	<i>Salmonella arizona</i> 
Hectoen		<i>Escherichia coli</i> 
Hectoen		<i>Vibrio cholerae</i> 
Mac Conky		<i>Enterobacter cloacae</i> 
Cétrimide		<i>Pseudomonas luteola.</i> 
Cétrimide		<i>Pseudomonas fluorescens</i> 

API 20NE	GNAB	<p><i>Chryseomonas luteol</i></p> 
API Staph	Chapman	<p><i>Staphylococcus xylosus</i></p> 
	Chapman	<p><i>Staphylococcus aureus</i></p> 
API AUX	Sabouraud	<p><i>Candida parapsilosis</i></p> 
	Sabouraud	<p><i>Cryptococcus albidus</i></p> 

Annexe II

➤ **Matériel utilisé**

1. Verrerie :

- ✓ Tube à essai.
- ✓ Béchers.
- ✓ Pipettes graduées.
- ✓ Pipettes Pasteur.
- ✓ Flacons.
- ✓ Lames et lamelle.
- ✓ Boîtes de pétri en verre

2. Appareillage :

- ✓ Étuve.
- ✓ Autoclave.
- ✓ Réfrigérateur.
- ✓ Balance.
- ✓ Bain marie.
- ✓ Four Pasteur.
- ✓ Microscope optique (objectif à immersion).
- ✓ Agitateur et barreau magnétique.

3. Autre matériel :

- ✓ Bec Bunsen.
- ✓ Anse de platine.
- ✓ Boîte de pétri.
- ✓ Portoirs.
- ✓ Micropipettes et cônes.
- ✓ Lame gilette.
- ✓ Vernet d'angles.
- ✓ Papier filtre.
- ✓ Pipettes en plastique.

4. Matériel chimique

Nanoparticule d'argent liquide de 0.02 n.

Annexe III

1. Les milieux liquides

✓ Milieu BCPL (Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol) : S/C

Peptone	05,00g
Extrait de viande	03,00g
Lactose	05,00g
Bromocrésol pourpre	0 ,025g
Eau distillée	1000ml

✓ Milieu ROTHE : S/C

Composition pour 1L

Peptone	20,00g
Glucose	05,00g
Azide de sodium	00,20 g
Chlorure de sodium	05,00g
Phosphate bipotassique	02,70g
Phosphate mono potassium	02,70 g
Eau distillée	1000ml

Le pH doit être 6.8 à 7, stériliser les milieux à l'autoclavage à 120°C pendant 20 min.

✓ Eva- Litsky

Peptone	20g/1
Glucose	5g/1
Chlorure de sodium	5 g/1
Phosphate bi potassique	2,7 g/1
Azothvate de sodium	0,3 g/1
Ethyle- vliote	5 g/1
Eau distillée	1000ml
pH	7

✓ **Eau peptonée exempte d'indole**

Peptone exempte d'indole	10gl
Chlorure de sodium	05gl
pH	7.2

2. Les milieux solides (gélifiés)✓ **Gélose Salmonella-Shigella (SS)**

Peptone pancréatique de caséine	10g
Lactose	10g
Sels biliaires	6g
Extrait de viande	5g
Citrate de sodium	8,5g
Citrate de fer ammoniacal	1g
Thiosulfate de sodium	8,5g
Rouge neuter	0,0025g
Vert brillant	0,00033g
Eau distillée stérile	1000ml

✓ **Gélose Chapman**

extraitviande	5 g/1
Peptone	10 g/1
Extrait de levure	6 g/1
Lactose	20 g/1
bleu de bromothymol	0,05 g/1
Agar	20 g/1

✓ **Gélose GELM**

Agar	4 g/1
Extrait de malt	0,20 g/1
Extrait de levure	1 g/1
Glucose	1 g/1
L'eau distillée stérile	0,21 g/1

✓ **TGEA (gélose numération: gélostryptone- glucose- Extrait de levure)**

Tryptone	5g
Glucose	1g
Extrait de levure	25g
Gélose	15g
Eau distillée	1000ml

PH final : 7, l'autoclavage à 120C° pendant 20 minutes

✓ **kingA**

Peptone bactériologique A	20 g/1
Glécérol	10 g/1
K ₂ SO ₄	10 g/1
MgCl ₂	1,4 g/1
Agar purifié	12 g/1

✓ **KingB**

Peptone bactériologiqueA	20 g/1
Glécérol	10 g/1
K ₂ SO ₄	10 g/1
MgCl ₂	1,4 g/1
Agar purifié	12 g/1

✓ **Gélose Hektoen**

Protéase peptone	12 g/1
Extrait de levure	3 g/1
Saccharose	12 g/1
Lactose	2 g/1
Solicine	2 g/1
Chlorure de sodium	5 g/1
Thio sulfate de sodium	5 g/1
Citrate ferrique ammonica	15 g/1
Sels biliaires	9 g/1
Bleu de bromothyno	10, 064 g/1
Fuchsine acide	0,04 g/1
Eau distillée stérile	L1

✓ **Milieu de Mac Conkey**

Peptone bactériologique	20 g / l
Sels biliaires	1,5 g / l
Chlorure de sodium	5 g / l
Lactose	10 g / l
Rouge neutre	0,03 g / l
Cristal violet	0,001 g / l
Agar	15 g / l
pH	7,1
Eau distillée stérile	L1

✓ **Viande foie (VF)**

Base viande foie	30
Glucose	2g
Amidon	2 g
Agar	1g
Eau distillée	1000 ml

✓ **Gélose nutritive**

Peptone	5 g / l
Extrait de viande	1g / l
Extrait de levure	2g/l
Chlorure de sodium	5g / l
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,4

✓ **Gélose Sabouraud**

Peptone	10 g/ l
Gelose massé	20 g/ l
Eau distillée stérile	1L
Agar	15 g/ l
Vitamines et facteurs de croissance	

✓ **Milieu manitol – mobilité**

Peptone pancréactique de vande	20 g/ l
Mannitol	2 g/ l
Nitrate de potassium	1 g/ l
Rouge de phénol en solution à 1%	4ml
Eau distillée stérile	1L

✓ **Citrate de simmons**

Chlorure de sodium	5 g/ l
Sulfate de magnésium 7420	0,2 g/ l
Phosphate dipotassique PO_4HK_2	2 g/ l
Solution de bleu bromothymol	8g/ l
Agar	15g/ l
Eau distillée stérile	1L

3. Réactifs✓ **Réactif TDA**

Perchlorure de fer	3.4 g
Eau distillée	100 ml

✓ **Réactif IND**

Paradiméthylaminobenzaldéhyde	5.0 g
Alcool isoamylique	75.0 ml
HCL 37%	25.0 ml

✓ **Réactifs de Voges Proskauer (VP)** : pour la recherche de l'acétoïne

VP 1	Hydroxyde de potassium	40 g
	Eau distillée	100 ml
VP 2	Alpha naphтол	6 g
	Ethanol	100 ml

✓ **Réactif kowax** : pour la recherche de l'indol

Annexe IV

Tab1 : Table de NNP.

Nombre caractéristique	Nombre de micro-organisme
000	0,0
001	0,3
010	0,3
011	0,6
020	0,6
100	0,4
101	0,7
102	1,1
110	0,7
111	1,1
120	1,1
121	1,5
130	1,6
200	0,9
201	1,4
202	2,0
210	1,5
211	2,0
212	3,0
220	2,0
221	3,0

222	3,5
223	4,0
230	3,0
231	3,5
232	4,0
300	2,5
301	4,0
302	6,5
310	4,5
311	7,5
312	11,5
313	16,0
320	9,5
321	15,0
322	20,0
323	30,0
330	25,0
331	45,0
332	110,0
333	140,0

Tab3 : Tableau de lecture de l'API20E.

Tests	Composants	QTE (mg/cup.)	Réactifs / Enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- β Dgalactopyranoside	0,223	β -galactosidase (Ortho NitroPhényl- β DGalactopyranosidase)	incolore	Jaune
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	jaune	rouge / orangé
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
CIT	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu
H₂S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin liseré
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	TDA / immédiat	
				jaune	marron- rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	JAMES / immédiat	
				incolore vert pâle / jaune	Rose
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				incolore / rose pâle	rose / rouge
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	Fermentation oxydation(GLUcose)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune gris

MAN	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol)	bleu / bleu- vert	Jaune
INO	inositol	1,9	fermentation / oxydation (INOsitol)	bleu / bleu- vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol)	bleu / bleu- vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAmnose)	bleu / bleu- vert	Jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose)	bleu / bleu- vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELibiose)	bleu / bleu- vert	Jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (AMYgdaline)	bleu / bleu- vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbinose)	bleu / bleu- vert	jaune
OX	(voir notice du test oxydase)		cytochrome-Oxydase	(voir notice du test oxydase)	

Tab4 : Tableau de lecture de l'API20NE.

Tests	Substrat	Enzymes/Réactions	Résultats	
			Négatif	Positif
NO₃	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 mn	
			Incolore	Rose-rouge
		Réduction des nitrates en azote	ZN / 5 mn	
			Rose	Incolore
TRP	Tryptophane	Formation d'indole	TRP / 3-5 mn	
			Incolore	Goutte rouge
GLU	Glucose Fermentation	Fermentation	Bleu à vert	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rose/ Rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange/rose/ Rouge
ESC	Esculine	Hydrolyse	Jaune	Gris/marron/ Noir
GEL	Gélatine	Hydrolyse	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
PNPG	p-nitro-phényl- βDgalactopyranoside	β-galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	Glucose	Assimilation	Transparence	Trouble
ARA	Arabinose			
MNE	Mannose			
MAN	Mannitol			
NAG	N-acétylglucosamine			
MAL	Maltose			
GNT	Gluconate			
CAP	Caprate			
ADI	Adipate			

MLT	Malate			
CIT	Citrate			
PAC	Phényl-acétate			
OX	Tetraméthyl-pphenylène diamine	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet

Tab5 : Tableau de lecture de l'API20Staph.

TEST S	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				Négatif	Positif
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	Xylitol	1,4	acidification (XyLiTol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
				incolore -rose pâle	rouge
PAL	β -naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	ZYM A + ZYM B / 10 min	
				Jaune	violet
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				incolore -rose pâle	violet-rose
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)	Rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl- α Dglucopyranosi	1,28	acidification (Méthyl- α DGlucopyranoside)		
NAG	de	1,28	acidification (N-Acétyl-		

	N-acétyl-glucosamine		Glucosamine)		
<u>ADH</u>	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	Jaune	orange-rouge
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	Jaune	rouge-violet

Résumé

L'étude microbiologique des boues de la STEP du Guelma avant et après traitement des boues par nanoparticule d'argent, l'analyse bactériologique des boues avant traitement au NAg a montré une contamination fécale avec une forte concentration des germes suivants : germes totaux, coliformes totaux et fécaux, Streptocoques fécaux, anaérobies sulfito-réducteur et *Streptomyces*, pour les germes pathogènes, on trouve la présence des *Staphylocoques* avec une forte charge, *Pseudomonases*, *Salmonelles* à faible concentration, *Vibrio cholérique* et *Candida parapsilosis* avec une concentration moyenne, le traitement des boues par nano d'argent, induit une réduction des germes indicatrice de contamination de l'ordre : 97% de FAMT, 99.5% CT, 99.5% CF, 99.5% SF, 100% *Streptomyces* et un pourcentage faible pour les ASR. L'ordre d'abattement pour les germes pathogènes est : 100% *Pseudomonases*, 80% de *Vibrio*, 100% de *Staphylocoques*, 80% levure, 77.5% *salmonelles*.

Mots clés : boues liquide, nanoparticule d'argent, STEP, contamination fécale, traitement.

summary

The microbiological study of the sludge from the WWTP Guelma before and after treatment of sludge by nanoparticle silver, bacteriological analysis of sludge before treatment Nag showed faecal contamination with a high concentration of the following bacteria: total bacteria, coliform total and faecal, fecal *Streptococcus*, anaerobic sulphite-reducing and *Streptomyces* for pathogens, found the presence of *Staphylococci* with a high load, *Pseudomonases*, *Salmonella* in low concentrations, *Vibrio cholera* and *Candida parapsilosis* with an average concentration, processing sludge nano silver, induces a reduction of the order of contamination indicator organisms: 97% of FAMT, CT 99.5%, 99.5% CF, SF 99.5%, 100% *streptomyce* and small percentage for ASR.

The order of abatement for pathogens is 100% *Pseudomonases*, *Vibrio* 80%, 100% of *Staphylococcus*, Yerst 80%, 77.5% *Salmonella*.

Keywords: liquid sludge, nanoparticle silver, STEP, fecal contamination, treatment.

ملخص

أظهرت دراسة علم الأحياء الدقيقة للحمأة الناتجة من محطات معالجة مياه الصرف بقالمة قبل وبعد العلاج الحمأة بجسيمات الفضة متناهية الصغر، والتحليل البكتريولوجي للحمأة قبل العلاج اظهر وجود تلوث برازي مع تركيز عال من البكتيريا التالية: مجموع القولونيات البرازية، المكورات العقدية البرازية والبكتيريا اللاهوائية اما فيما يخص مسببات الأمراض، اثبتت وجود المكورات العنقودية مع تركيز عالي، اما *Pseudomonases*، *Salmonelles* وجودها بتركيزات منخفضة، اما *Vibrio cholérique*، *Candida parapsilosis* توجد بتركيز متوسط، عند معالجة الحمأة بجسيمات الفضة متناهية الصغر، يؤدي الى انخفاض مؤشر التلوث: 97% من FAMT، 99.5% من CT، 99.5% من CF، 99.5 من SF، و 100% من *Streptomyces* ونسبة ضئيلة للـ ASR. نسبة القضاء على مسببات الأمراض هي 100%.
salmonelle 77.5%، *levure* 80%، *Staphylocoques* 100%، *vibrio* 80%، *Pseudomonases* 100%.

كلمات البحث: الحمأة السائلة ، جسيمات الفضة متناهية الصغر ، STEP، تلوث برازي والعلاج.