

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 et 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: Microbiologie Appliquée
Département: Ecologie et Génie de l'environnement

Thème :

**Caractérisation bactériologique des boues résiduairees des stations
d'épuration des eaux usées : cas de la station de Guelma**

Présenté par :

- MAALEM Tarek
- SAIDIA Chahra Zed
- TOGO Idrissa

Devant le jury composé de :

Président: Dr. OUMEDOUR Abdelkader (MCB)

Examineur : Dr. ROUIBI Abdelhakim (MCB)

Encadreur : Pr. HOUHAMDI Mopussa

Co-Encadreur : Dr. BOUCHAALA Laid (MR)

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

CRBT - Constantine

Juin 2018

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah, le tout puissant, de nous avoir donné, la santé, la volonté et la patience pour mener à terme ce travail.

Ces quelques expressions vont nous permettre de remercier tous ceux qui nous ont beaucoup apporté au niveau scientifique mais aussi personnel,

Nous adressons nos vifs remerciements à Monsieur **HOUHAMDI Moussa** Professeur à l'université 8 Mai 1945, Guelma et Directeur du laboratoire de recherche Biologie, Eau et Environnement (LBEE) pour avoir accepté d'encadrer ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements au Docteur **BOUCHAALA Laid** maître de recherche au centre de recherche en biotechnologie (CRBt) pour accepter de diriger et de Co-encadrer ce travail et pour ses compréhensions, ses conseils et ses aides, pour ses gentillesse et ses orientations efficaces.

Une très grande reconnaissance va au Docteur **OUMEDOOUR Abdelkader** pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury de ce travail et pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à notre travail.

Nous adressons également nos sincères remerciements au Docteur **ROUIBI Abdelhakim** d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail. Votre présence va valoriser, de manière certaine, le travail qu'on a effectué.

Aussi, nous remercions tous le personnel de la STEP Guelma d'avoir nous accepté pour faire un stage au niveau de la station.

Également nos profondes gratitude vont à tous les professeurs de l'université en particulier ceux du département. Votre enseignement a porté ses fruits.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

MECRIA VOUS TOUS

Table des matières

Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Partie Bibliographique	

Chapitre 1 : Généralité sur les boues résiduaires

1. Définition des boues résiduaires	3
1.1. Quantité et qualité des boues d'épuration.....	3
1.2. Objectifs du traitement des boues résiduaires	3
2. Traitement des eaux usées et des boues	4
2.1. La ligne eau	4
2.1.1. Le prétraitement	4
2.1.2. Le traitement primaire.....	6
2.1.3. Le traitement biologique	6
2.1.4. Le traitement tertiaire.....	8
2.2. La ligne boue	9
2.2.1. Le traitement des boues résiduaires	9
3. Traitement des eaux usées et des boues	13
3.2. Selon l'état physique	13
3.3. Selon l'origine	14
4. Composition des boues résiduaires	15
4.1. Caractéristiques et composition des eaux usées	15
4.2. Matière organique.....	16
4.3. Les éléments fertilisants	16
4.4. Des composés indésirables et des nuisances olfactives.....	16
5. Propriétés et caractéristiques des boues résiduaires.....	18
5.1. Caractéristiques de la phase solide	18
5.2. Caractéristiques de la phase liquide.....	19
6. Situation actuelle.....	19
6.1. Les formes de valorisation des boues résiduaires.....	19
6.1.1. La mise en décharge contrôlée.....	20
6.1.2. L'incinération.....	20

6.1.3. Utilisation agricole des boues (l'épandage).....	21
6.2. Situation de traitement des eaux usées	21
6.3. Situation de traitement et la valorisation des boues en Algérie.....	21

Chapitre 2 : Aperçu sur la zone d'étude

1. Présentation de la zone d'étude (wilaya de Guelma)	24
1.1. Localisation géographique.....	24
1.2. Climatologie	26
1.2.1. Pluviométrie	26
1.2.2. La Température	27
1.2.3. L'humidité relative de l'air	27
1.2.4. Le vent	28
2. Présentation de la STEP	29
2.1. Localisation géographique.....	29
2.2. Caractéristiques techniques de la STEP	29
2.3. Consistance physique	30
3. La nature des eaux.....	30
4. Les traitements des eaux collectées.....	30
4.1. Prétraitement.....	30
4.2. Traitement primaire	31
4.3. Traitement secondaire (biologique).....	32
4.4. Décantation secondaire.....	33
4.5. Désinfection.....	34
4.6. Traitement des boues d'épuration.....	34
4.6.1. L'épaississement	34
4.6.2. La stabilisation	35
4.6.3. Le séchage dans des lits de séchage.....	35

Partie Expérimentale

Chapitre 3 : Matériel et méthodes

1. Description des boues	37
2. Echantillonnage.....	37
3. Méthodes analytiques utilisées.....	38
3.1. Les bactéries revivifiables	39
3.2. Dénombrement des indicateurs de contamination fécale	41

3.2.1.	Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux	42
3.2.2.	Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	45
3.2.3.	Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices (Clostridium).....	47
3.3.	Recherche des germes pathogènes	49
3.3.1.	Recherche de <i>Salmonella</i>	49
3.3.2.	Recherche de <i>Shigella</i>	52
3.3.3.	Recherche de <i>Vibrio cholérique</i>	53
3.3.4.	Recherche des <i>Staphylococcus</i>	56
3.3.5.	Recherche des <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	56
3.4.	Identification morphologique et biochimique des bactéries recherchées	57
3.4.1.	Identification morphologique.....	57
3.4.2.	Identification biochimique	59

Chapitre 4 : Résultat et discussions

1.	Résultat de la caractérisation bactériologique	73
1.1.	Dénombrement des germes	73
1.1.1.	Les germes revivifiables	75
1.1.2.	Les coliformes totaux.....	75
1.1.3.	Les coliformes fécaux	76
1.1.4.	Les streptocoques fécaux	77
1.1.5.	Les bactéries anaérobies sulfito-réductrices	77
1.2.	Recherche des bactéries pathogènes.....	78
1.2.1.	Identification des espèces	78
1.2.2.	Identification biochimique des germes pathogènes	79
	Conclusion.....	85

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Résumé

Le travail que nous proposons est basé sur une caractérisation bactériologique des boues résiduaires issues de la station d'épuration des eaux usées cas de la STEP Guelma. Les analyses bactériologiques que nous avons effectuées portent sur le dénombrement des germes indicateurs d'une contamination fécale (coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux)

d'une part et d'autre part l'identification des germes en particulier les germes pathogènes.

Les résultats trouvés montrent que la charge microbienne en germes indicateurs d'une contamination fécale est très variée d'un type de boue à l'autre (liquide, moyenne, sèche) et d'un mois à l'autre.

Nous avons aussi enregistré que les boues du mois de février sont les moins chargées en microorganismes d'origine fécale et que les boues du mois d'avril sont les plus chargées. En outre les boues sèches sont caractérisées par une faible charge en bactéries d'origine fécale au contraire des autres types des boues liquide et moyenne dont les boues moyennes sont les plus chargées.

Cependant, la recherche bactériologique nous a permis d'identifier des germes pathogènes tel les salmonelles en particulier dans les boues moyennes ce qui oblige de ne pas utiliser les boues résiduaires à ce stade dans l'épandage.

Mots clés : boues résiduaires, station d'épuration, caractérisation bactériologique, eaux usées, Guelma.

Abstract

The work we are proposing is based on a bacteriological characterization of waste sludge from the wastewater treatment case of STEP Guelma. The bacteriological analyzes that we carried out relate to the enumeration of the indicator germs of a fecal contamination (total coliforms, faecal coliforms, faecal streptococci) on the one hand, and on the other hand the identification of the germs in particular the pathogenic germs.

The results found show that the microbial load in germs indicative of fecal contamination is very varied from one type of sludge to another (liquid, medium, dry) and from one month to another.

We recorded that sludge in the month of February is the least loaded fecal germs, while sludge in the month of April is the most loaded. In addition dry sludge is characterized by a low load of bacteria of fecal origin unlike other types of liquid and medium sludge whose medium sludge is the most loaded.

However, the bacteriological research has allowed us to identify pathogenic germs such as *Salmonella*, especially in the medium sludge, which makes it unnecessary to use sludge at this stage in the spreading process.

Key words: waste sludge, wastewater treatment plant, bacteriological characterization, wastewater, Guelma.

ملخص

في هذه الدراسة المقترحة اعتمدنا على تحديد الخصائص البكتيريولوجية للحمأة المستخرجة من محطة تصفية المياه المستعملة لولاية قلمة. تعتمد التحاليل البكتيريولوجية المنجزة على إحصاء الجراثيم المسؤولة عن التلوث البرازي (القولونيات العامة، القولونيات البرازية و العقديات البرازية ...) من جهة، و من جهة أخرى قمنا بتحديد و التعرف على الجراثيم و بشكل خاص الجراثيم الممرضة.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن تركيز الميكروبات و خاصة المسؤولة عن التلوث البرازي تتغير تغير كبير بتغير نوع الحمأة (سائلة، متوسطة و جافة) و تتغير من شهر إلى آخر.

كما سجلنا أن الحمأة في شهر فيفري هي التي تحتوي على اضعف تركيز للجراثيم البرازية في حين الحمأة في شهر أفريل هي الأكثر تركيز لهذه الجراثيم. أيضا الحمأة الجافة تتميز بتركيز ضعيف للجراثيم البرازية على عكس الصنفين الآخرين الحمأة السائلة و الحمأة المتوسطة هذه الأخيرة تعرف تواجد لتركيز كبير للجراثيم البرازية.

في نفس الوقت، البحث البكتيريولوجي سمح لنا بالتعرف على بعض الجراثيم الممرضة منها السالمونلا المتواجدة خاصة في الحمأة المتوسطة، و هو ما يفرض علينا عدم استعمال الحمأة في هذه المرحلة كنثر في الزراعة.

الكلمات الرئيسية : محطة تصفية المياه المستعملة ، الحمأة ، الخصائص البكتيريولوجية للحمأة ، المياه المستعملة ، قلمة.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Caractères d'identification biochimiques de <i>Shigella</i>	53
Tableau 02 : Différences majeures entre les <i>Vibrio</i> , <i>Pleisiomonas</i> et <i>Aeromonas</i>	54
Tableau 03 : Les tests biochimiques	60
Tableau 04 : Lecture et interprétation du test nitrate-réductase	64
Tableau 05 : Résultat du test ONPG chez quelques entérobactéries	65
Tableau 06 : Résultat de dénombrement des bactéries indicatrices de contamination dans les boues résiduaires pour le premier prélèvement au mois de février (le 26/02/2018)	73
Tableau 07 : Résultat de dénombrement des bactéries indicatrices de contamination dans les boues résiduaires pour le deuxième prélèvement au moins de mars (le 13-03-2018)	74
Tableau 08 : Résultat de dénombrement des bactéries indicatrices de contamination dans les boues résiduaires pour le troisième prélèvement au mois d'avril (le 22-04-2018)	74
Tableau 09 : Caractères morphologiques et coloration des Gram	78
Tableau 10 : Résultats de l'identification bactérienne par la galerie classique	80
Tableau 11 : Résultats de l'identification bactérienne par l'API E, NE et Staph	81

Liste des figures

Figure 01 : Etudes préalables au choix d'une filière d'élimination des boues d'une STEP.....	12
Figure 02 : Schéma des différents types de boues dans un procédé de traitement par boues activées	15
Figure 03 : Image satellitaire de la wilaya de Guelma (50 Km)	25
Figure 04 : Localisation de la STEP de Guelma (500 m)	25
Figure 05 : Précipitation moyenne entre 2005 et 2015	26
Figure 06 : Température moyenne entre 2005 et 2015	27
Figure 07 : Humidité moyenne entre 2005 et 2015	28
Figure 08 : Vent moyenne entre 2005 et 2015	28
Figure 09 : Maquette de la STEP Guelma	29
Figure 10 : Ouvrage de prétraitement	31
Figure 11 : Les décanteurs primaires	32
Figure 12 : Bassin d'aération	33
Figure 13 : Clarificateur	33
Figure 14 : Bassin désinfection	34
Figure 15 : L'épaississeur	34
Figure 16 : Le bassin de stabilisation des boues	35
Figure 17 : Lits de séchage	36
Figure 18 : Dénombrement des bactéries revivifiables	40
Figure 19 : Dénombrement des coliformes totaux et fécaux	44
Figure 20 : Dénombrement des streptocoques fécaux	46
Figure 21 : Recherche et dénombrement des ASR	48
Figure 22 : Recherche des <i>Salmonella</i>	51
Figure 23 : Recherche des <i>Vibrio</i>	55
Figure 24 : Coloration de Gram	59

Figure 25 : Tests biochimiques complémentaires : Catalase, Oxydase	62
Figure 26 : Tests biochimiques complémentaires : Nitrates réductases, Test ONPG, Urée-Indole..	67
Figure 27 : Tests biochimiques complémentaires: TSI, Mannitol-Mobilité, Citrate de Simmons...	70
Figure 28 : Méthode de remplissage de l'API	71
Figure 29 : Représentation graphique du dénombrement des germes revivifiabiles à 22°C.....	75
Figure 30 : Représentation graphique du dénombrement des germes revivifiabiles à 37°C.....	75
Figure 31: Représentation graphique du dénombrement des coliformes totaux	76
Figure 32: Représentation graphique du dénombrement des coliformes fécaux	76
Figure 33 : Représentation graphique du dénombrement des streptocoques fécaux	77
Figure 34 : Les résultats de dénombrements des ASR	77
Figure 35 : Résultats de quelques galeries biochimiques classiques	80
Figure 36 : Profil biochimique de <i>Serratia odorifera</i>	82
Figure 37: Profil biochimique de <i>Staphylococcus sciuri</i>	82
Figure 38: Profil biochimique de <i>Vibrio natriegens</i>	82

Liste des abréviations

ADH	: Arginine Dihydrolase
ANDI	: Agence Nationale de Développement et l'Investissement
ASR	: Anaérobie Sulfito-réducteur
BCPL	: Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésole
Cd	: Cadmium
CEN	: Comité Européen de Normalisation
CF	: Coliformes fécaux
COS	: Conseil d'Orientation et de Surveillance
Cr	: Chrome
CT	: Coliformes totaux
CTO	: Composés traces organiques
Cu	: Cuivre
DBO₅	: Demande biochimique en oxygène (5 jours)
DCO	: Demande chimique en oxygène
EDS	: Eau Distillée Stérile
EPA	: Eau Peptonée Alcaline
ETM	: Les éléments traces métalliques
GN	: Gélose nutritive
GNAB	: Gélose nutritive alcaline biliée
H₂O₂	: Eau oxygénée
H₂S	: Sulfure d'hydrogène
Hg	: Mercure
IANOR	: Institut Algérien de normalisation
J.O.R.A	: Journal officielle de la république algérienne
LDC	: Lysine Décarboxylase
MES	: Matières en suspension
MM	: Matières minérales

MS : Matières sèches

MV : Matière volatile

Ni : Nickel

NPP : Nombre le plus probable

ODC : Ornithine Décarboxylase

ONA : Office National d'Assainissement

ONPG : O.Nitrophényl.Pyrano.Galactoside

Ox : Oxydase

Pb : Plomb

RM : Rouge de Méthyle

Rothe : Bouillon a l'azide de sodium

S /C : Simple concentration

SF : Streptocoques fécaux

SFB : Bouillon au sélénite de Leifson

SS : *Salmonella-Shigella*

STEP : Station d'épuration

TDA : Tryptophane désaminase

TGEA : Glucose tryptone extrait agar

UFC : Unité Formant Colonie

VF : Viande foie

VP : Voges- Proskauer

Zn : Zinc

***Introduction
générale***

La croissance démographique et le développement des activités humaines s'accompagnent inévitablement d'une production croissante de rejets polluants et d'une complexification de ces derniers (MUBA MOPILI, 2012). Une estimation montre qu'une personne consomme 150 à 200 litres en moyenne d'eau potable par jour. Une fois utilisée, il est nécessaire d'évacuer cette eau dans de bonnes conditions afin de protéger l'environnement. De nombreuses substances sont déversées dans l'eau ce qui alter sa qualité. Cette pollution est produite par des matières minérales et organiques, indésirables ou toxiques qui sont en suspension, en solution ou en émulsion (in DESHAYES, 2008). Ce problème est devenu une préoccupation majeure pour l'ensemble de la population et une priorité pour les autorités publiques. Au préalable, un constat s'impose : l'eau est indispensable à la vie sur terre car ces usages sont multiples et le développement industriel et/ou agricole se construit toujours en fonction de la disponibilité de l'eau. Ces deux affirmations sont à prendre en compte quelque soit l'époque considérée (CRINI et BADOT, 2007).

L'une des moyens de lutte contre les eaux polluées que nous à offert la technologie est les stations d'épuration des eaux polluées (STEP). Elle comporte généralement plusieurs phases de traitement (in METAHRI, 2012). Quelque soit le système d'épuration adopté, le traitement des eaux usées s'accompagne d'une production de quantités de boues non négligeables dont il faut se débarrasser. Plusieurs filières existent pour l'élimination de ces boues, mais le choix doit être tributaire du coût d'installation, de l'origine de boues, de la valeur ajoutée du produit qui en résulte et de l'impact que pourrait avoir la filière retenue sur l'environnement. La mise en décharge (appelée aussi stockage) s'avère une technique peu valorisante et est légalement interdite dans de nombreux pays (Directive 1999/31/CE). L'incinération de boues a un coût prohibitif et présente un risque lié à l'impact de gaz toxiques sur l'environnement tel que celui de la dioxine. La valorisation énergétique (production de biogaz comme source de chaleur et d'électricité) et la valorisation biologique ou agricole (production d'engrais et de compost) constituent des technologies vertes permettant de transformer les boues en produits à haute valeur ajoutée en minimisant les risques de pollution (in BELGHAOUTI, 2012).

L'Office National de l'Assainissement (ONA) en Algérie a estimé, en 2013, que 539 tonnes de boues résiduaires sont générées par jour. Or, cette quantité ne peut pas être délivrée en état puisque ce déchet pose un sérieux problème pour la santé publique et pour l'environnement. Il peut contenir des polluants (métaux lourds et composés organiques polluants) et des pathogènes dangereux (microorganismes et parasites). Cela impose un traitement adéquat pour l'innocuité et la valorisation de ce déchet. En Algérie, les travaux de recherche entrepris sont focalisés principalement sur la caractérisation partielle des boues (métaux lourds).

Notre objectif dans ce présent travail est de déterminer les caractéristiques bactériologiques des boues résiduaire de la STEP de Guelma en se basant sur le dénombrement des germes d'origine fécale et sur la recherche d'éventuels germes pathogènes.

Notre mémoire est structuré en deux parties indépendantes : la première rassemble des généralités sur les stations d'épuration et la seconde décrit les techniques de microbiologie utilisées pendant la réalisation pratique de ce travail effectué au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université 8 Mai 1945, Guelma.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 :

*Généralités sur
les boues
résiduaires*

1. DEFINITION DES BOUES RESIDUAIRES

Selon le Comité Européen de Normalisation (CEN) les boues sont définies comme «*un mélange d'eau et de matières solides, séparé par des procédés naturels ou artificiels des divers types d'eau qui le contiennent*». Donc les boues sont des matières issues du traitement des eaux usées où, l'épuration de ces eaux usées, domestiques et/ou industrielles, s'effectue dans une STEP en différentes étapes selon des techniques appliquées. Il en résulte une eau épurée et un résidu principal : les boues (in JARDI, 2002).

Cependant, et au cours de l'épuration les boues apparaissent généralement à deux niveaux :

- 1- Les plus grosses particules solides se déposent au fond du décanteur primaire et forment les boues primaires.
- 2- Les particules fines dispersées et ces substances dissoutes sont fixées et métabolisées par les bactéries qui se multiplient en présence d'oxygène au cours de l'opération d'aération (in KAROUNE, 2008).

1.1. Quantité et qualité des boues d'épuration

Les quantités de boues produites sont en fonction :

- De la nature et des caractéristiques physico-chimiques des eaux urbaines,
- Du conditionnement chimique appliqué dans le cadre d'une épuration physico-chimique,
- Du type de traitement biologique mise en œuvre (boues activées ou lits bactériens des procédés à haute, moyenne ou faible charge),
- De la stabilisation (chimique ou biologique) pratiquée sur les boues,
- Du type d'appareillage de séparation (décantation statique, lamellaire ou aéro-flottation) mise en œuvre (KOLLER, 2004).

La qualité et la composition des boues extraites de STEP sont déterminées entre autres par les facteurs suivants :

- Système d'assainissement ;
- Niveau de vie de la population ;
- Nature et quantité des eaux résiduaires industrielles déversées dans le réseau d'assainissement ;
- Procédé d'épuration des eaux (KOLLER, 2004).

1.2. Objectifs du traitement des boues résiduaires

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 (in KAROUNE, 2008).

2. TRAITEMENT DES EAUX USEES ET DES BOUES

La composition des eaux usées véhiculées par le réseau d'assainissement est extrêmement variable en fonction de leur origine. Elles peuvent contenir de nombreuses substances, sous forme solide (des flottants) ou dissoute (des matières en suspension) (KOLLER, 2004). Ainsi que de nombreux microorganismes. En fonction de leurs caractéristiques physiques, chimiques, biologiques et du danger sanitaire qu'elles représentent, ces substances peuvent être classées en quatre groupes : les matières en suspension, les micro-organismes, les éléments traces minéraux ou organiques, et les substances nutritives (in ZEGHOUD, 2013).

Pour chacun des facteurs de pollution (MES, matière organiques, colorants, métaux toxiques, détergents, etc.), il existe des méthodes de correction ; théoriquement, une opération chimique ou physique est toujours possible, qui permet d'éliminer l'élément polluant et d'éviter les conséquences de sa présence (KOLLER, 2004).

Les processus d'élimination des polluants conduisent toujours à la conception d'une chaîne de traitement constituée d'une succession d'opérations unitaires ou de stades de traitement entre lesquels il peut, dans la pratique, exister des interactions (KOLLER, 2004).

Pour atteindre les objectifs d'une eau épurée qui satisfait aux normes de rejets édictées par la législation, les spécialistes de l'assainissement des eaux résiduaires disposent des groupes de techniques (KOLLER, 2004). Le processus d'épuration des eaux usées comprend trois grandes étapes principales; le prétraitement, les traitements primaires et secondaires parfois suivis par un quatrième niveau de traitement, appelé traitement tertiaire (in BELGHAOUTI, 2012).

2.1. La ligne eau

2.1.1. Le prétraitement

Après collecte et acheminement vers les stations d'épuration, les eaux contiennent de nombreuses matières très hétérogènes, grossières, et potentiellement dangereuses pour les machines (in PONY, 2009).

avant le traitement proprement dit des eaux collectées, un prétraitement qui comporte un certain nombre d'opérations uniquement mécaniques ou physiques (in BOUKARROUCHA, 2010). Parmi les : le dégrillage principalement pour les déchets volumineux, le dessablage pour les sables et graviers et le dégraissage- déshuilage ou d'écumage-flottation pour les huiles et les graisses (in METAHRI, 2012).

Le prétraitement permet d'éliminer 10 à 15% de la pollution initiale des eaux usées (KOLLER, 2004). Il est destiné à extraire le maximum d'éléments dont la nature et la dimension constitueraient une gêne pour un traitement ultérieur (in METAHRI, 2012).

• Dégrillage

Le dégrillage consiste à séparer les matières les plus volumineuses charriées par l'eau brute, on faisant passer l'effluent d'entrée à travers des barreaux dont l'écartement est bien calculé. L'efficacité du dégrillage est en fonction de l'écartement entre les barreaux de la grille ; on distingue :

- Pré dégrillage pour écartement 30 à 100mm ;
- Dégrillage moyen pour écartement 10 à 25 mm ;
- Dégrillage fin pour écartement 3 à 10 mm (in TELLI, 2013).

• Dessablage

Après le dégrillage, il reste encore dans l'eau des fragments solides qui peuvent décanter facilement, mais dont la dureté et la taille relativement importante, supérieur à 0.2 mm de diamètre, pourraient conduire à l'abrasion de certains éléments de la station et particulièrement les pompes, on élimine ces matériaux facilement décantables dans de petits bassins rectangulaires ou circulaires, les sables ainsi séparés, pouvant être mélangés aux autres boues sans problème majeur si ce n'est qu'ils sont fermentescibles, il existe des dessableurs aérés pour pallier cet inconvénient (in DEROUICHE, 2011).

• Le dégraissage-déshuilage

Les opérations de dégraissage et de déshuilage consistent à une séparation des huiles et des graisses, produits de densité légèrement inférieure à celle de l'eau, de l'effluent brut.

Le déshuilage est une opération de séparation liquide-liquide bien souvent réservée à l'élimination des huiles, par contre le dégraissage est une opération de séparation liquide-solide

réalisant un compromis entre une rétention maximale de graisses et un dépôt minimal de boues (in DESHAYES, 2008).

Ces huiles et graisses forment une couche mince en surface et gênent ainsi le processus d'aération. Donc Il est nécessaire de piéger ces substances au niveau du prétraitement par écumage manuel ou mécanisé (in DEROUICHE, 2011). L'injection d'air au fond de la bêche de séparation (principe de flottation) permet leurs récupérations. Cette préparation des effluents facilite l'épuration des effluents en aval, en réduisant le colmatage et en évitant une certaine inhibition des processus biologiques (in DESHAYES, 2008).

2.1.2. Le traitement primaire

Une fois les étapes de prétraitement réalisées, les eaux usées vont subir des procédés physiques ou physico-chimiques, car il reste dans l'eau une charge polluante dissoute et des matières en suspension. La nature (organique ou minérale), les dimensions (particules grossières non piégées lors des étapes de prétraitements, finement dispersées ou à l'état colloïdal) et la densité de ces particules sont très variables (in JARDI, 2002). C'est ce que l'on appelle le traitement primaire. Ce traitement ne permet d'obtenir qu'une épuration partielle des eaux usées (in PONY, 2009). Donc l'objectif du traitement primaire consiste à éliminer :

- Matière décantable par une simple décantation
- Turbidité qui est traité par la coagulation-floculation
- Certaines matières en solution par la précipitation chimique (in TELLI, 2013).

L'eau va alors passer au travers de bassins décanteurs, à faible vitesse permettant ainsi la sédimentation des particules au fond des bassins, et leur enlèvement via des pompes. Une étape de coagulation-floculation préalable à la décantation permet d'améliorer l'épuration. C'est le traitement physico-chimique. Cette technique comporte une première phase d'adjonction d'un réactif (sels de fer ou d'aluminium) qui provoque l'agglomération des particules en suspension, provoquant ainsi leur chute au fond de l'ouvrage. 90% des matières en suspension peuvent alors être éliminées (in PONY, 2009).

2.1.3. Le traitement biologique

Les traitements biologiques ou naturels font appel aux micro-organismes présents dans le milieu pour dégager la pollution. Elles miment les propriétés d'épuration des sols (cultures fixées) ou des rivières (boues activées). L'apport d'oxygène peut être naturel (le vent ou système de cascade) dans les petites installations de lagunage, ou artificiel (turbine ou diffusion de microbulles) dans les stations d'épuration à boues activées (MUBA MOPILI, 2012).

Si la culture bactérienne est maintenue en suspension (libre) et dans un ouvrage aéré et alimenté par l'effluent à traiter (bassin d'aération), il s'agit du procédé à boues activées (CANLER *et al.*, 2011). Dans le procédé de type lit bactérien par contre, la culture est fixée ou retenue sur un support solide. D'autres processus sont aussi utilisés (tel que les disques biologiques ...) (in JARDI, 2002).

- Les procédés biologiques à cultures libres « les boues activées »

Le traitement par boues activées est très largement utilisé. Il s'agit d'un réacteur qui contient les eaux à traiter, dans lequel est injectée une boue chargée de bactéries. Les bactéries sont capables de consommer la pollution organique contenue dans les effluents (matières organiques) (PANDOLFI, 2006; in METAHRI, 2012).

Les bactéries, en suspension dans l'eau des bassins, sont donc en contact permanent avec les matières polluantes dont elles se nourrissent et avec l'oxygène nécessaire à leur assimilation (in KAROUNE, 2008). Les populations bactériennes maintenues sont sous forme floculée. Ce principe naturel de floculation permet de séparer l'eau traitée de la biomasse par simple décantation et de recycler une partie de la masse active vers le réacteur biologique pour maintenir une activité biologique optimale (in TELLI, 2013).

A la sortie du réacteur et après un temps de contact suffisant, l'effluent passe dans un clarificateur appelé parfois décanteur secondaire destiné à séparer l'eau épurée des boues. La boue décantée est séparée en deux flux : l'un rejoint le réacteur (recirculation) et l'autre est évacué vers la filière des boues (in METAHRI, 2012).

- Les procédés biologiques à cultures fixées « les biofiltres et les lits bactériens »

Le principe de ces procédés consiste à faire ruisseler l'eau à traiter, préalablement décantée, à travers une masse de matériau de grande surface sur lequel se développent les microorganismes épurateurs qui constituent alors un feutrage ou un biofilm sur ce support. Le type de matériau varie suivant les procédés :

- Les lits bactériens utilisent des galets ou des supports alvéolaires,
- Les biofiltres utilisent des matériaux de plus petite taille : des argiles cuites, des schistes, du polystyrène, des graviers ou des sables.

Les biofiltres permettent généralement des traitements plus intensifs et plus poussés que les lits bactériens classiques, plus rustiques dans leur conception et dans leur exploitation (in KAROUNE, 2008).

Les lits bactériens sont généralement réalisés en forme circulaire, en se basant sur trois paramètres suivants:

- Choix des matériaux,
- Répartition de l'effluent,
- Utilisation de recyclage.

Pour un bon rendement, une aération apporte l'oxygène nécessaire aux micro-organismes qui se développent sous forme d'un film biologique en surface de matériaux (in TELLI, 2013).

Parallèlement, il existe d'autres lits bactériens appelés disques biologiques tournants. Cette technique, très ancienne se rencontre dans un certain nombre de station qui nécessitent une modernisation. Ces disques très légers en matière plastique, de 10 mm d'épaisseur et de 2 à 3 m de diamètre, sont espacés de 1 à 2 cm et montés sur un arbre horizontal, lequel est entraîné par un moteur (in METAHRI, 2012).

- Les procédés biologiques extensifs : le lagunage naturel

Les lagunes sont constituées de plans d'eau peu profonds, en général au nombre de trois. L'oxygène nécessaire au développement des microorganismes hétérotrophes est fourni par les algues photosynthétiques. L'apport d'oxygène naturel, peut être complété exceptionnellement par des aérateurs pour stimuler l'activité biologique.

Les bassins de traitement des eaux brutes éliminent essentiellement les polluants carbonés, les bassins suivants, dits d'affinage (eau déjà traitée), peuvent en outre permettre l'élimination des contaminants biologiques par l'action du rayonnement solaire (in KAROUNE, 2008) .

2.1.4. Les traitements tertiaires

A l'issue du traitement secondaire, l'eau traitée est parfois directement rejetée en milieu naturel. Autrement, elle subit un troisième niveau de traitement (in PONY, 2009), qui est souvent considéré comme facultatif ou complémentaire permet d'affiner ou d'améliorer le traitement secondaire. De telles opérations sont nécessaires pour assurer une protection complémentaire de l'environnement récepteur ou une réutilisation de l'effluent en agriculture ou en industrie. le traitement tertiaire vise à améliorer la qualité générale de l'eau (in METAHRI, 2012).

Ce traitement peut être pour objectif de :

- Réduction des matières en suspension et de la pollution organique biodégradable ;
- Réduction de la pollution organique non biodégradable ;

- Réduction de la pollution phosphorée : la déphosphatation, et la pollution azotée : nitrification/dénitrification ;
- Élimination des germes pathogènes : la désinfection (in JARDI, 2002).

2.2. La ligne boue

2.2.1. Le traitement des boues résiduaires

Le procédé à boues activées produit des boues de manière régulière (Journalière) qui oblige leur gestion sur le site de la station avant destination finale. De cette contrainte est née la filière de traitement des boues en parallèle avec celle de l'eau pour une meilleure maîtrise du devenir de ce sous produit de traitement (in TELLI, 2013). Ces boues se présentent sous une forme liquide et avec une forte charge en matière organique hautement fermentescible. Ces caractéristiques sont gênantes et posent beaucoup de problèmes techniques pour leur évacuation «quelle que soit la destination », parmi lesquels leur transport et leur stockage qui conduisent souvent à des problèmes de manipulation et des nuisances olfactives. Ceci impose le choix d'une filière de traitement dès l'installation de la STEP (in AMIR, 2005).

On peut définir le traitement des boues comme l'ensemble des opérations visant à modifier les caractéristiques des boues (le pouvoir fermentescible, la liquidité) afin de rendre leur destination finale fiable et sans nuisance (in DEROUICHE, 2011).

Les boues subissent des traitements de stabilisation, réduction de la teneur en eau et d'hygiénisation avant d'être rejetées dans le milieu naturel ou réutilisées à des fins agricoles ou énergétiques (in DEROUICHE, 2011). Les procédés de traitement des boues peuvent varier suivant leurs natures et la taille de la station d'épuration (MUBA MOPILI, 2012).

Le défi pour les stations d'épuration est de trouver des moyens pour réduire les coûts de la disposition des rejets. Le traitement et la gestion des boues constituent une part importante de ce défi. L'augmentation de la production des boues a fourni une raison importante pour intensifier les recherches sur leur disposition finale (in BEN RABEH, 2001).

➤ Stabilisation

Les boues contiennent une importante proportion de matière organique et par conséquent sont très putrescibles, le but de la stabilisation est de réduire leur fermentescibilité (les rendre inertes), et limiter voire annuler les nuisances olfactives (inodores) (in DEROUICHE, 2011), et consiste soit à forcer l'évolution des boues jusqu'à une minéralisation assez poussée c'est la digestion ; soit une interruption de la vie au sein des boues, il s'agit de la stabilisation physico-chimique (in KAROUNE, 2008).

Les traitements de stabilisation utilisés sont de type biologique (peut être atteinte par méthanisation), chimique (par un chaulage ou une stabilisation aux nitrites.) ou thermique. Ils s'appliquent aux boues mixtes fraîches, aux boues secondaires ou à l'ensemble des boues (KOLLER, 2004).

La notion de stabilisation renseigne sur le niveau d'odeur de la boue (absence d'odeur, ou odeur faible, moyenne, forte) (in KAROUNE, 2008).

- La stabilisation biologique réduit la teneur des boues en matières fermentescibles. Elle se fait soit par voie aérobie (en présence d'oxygène) dans les bassins d'aération ou dans des bassins de stabilisation aérobie, soit par voie anaérobie (absence d'oxygène) dans des digesteurs avec production de biogaz riche en méthane.
- La deuxième technique de stabilisation utilisée est le compostage qui est un procédé particulier de stabilisation biologique aérobie. Il se réalise de préférence sur des boues déjà déshydratées de façon à économiser l'approvisionnement en support de compostage.
- La troisième voie possible est la stabilisation chimique qui bloque simplement l'activité biologique et donc l'évolution de la boue, par adjonction d'une quantité importante de chaux, élevant le pH au-delà de 12. Le chaulage suppose généralement une déshydratation préalable des boues (in JARDI, 2002).

Elle peut se faire :

- En présence d'air : c'est la digestion aérobie.
- En absence d'air : c'est la digestion anaérobie.
- Par adjonction de chaux : c'est la stabilisation chimique (in TELLI, 2013).

➤ **Réduction de la teneur en eau des boues**

Pour réduire les volumes de boues, différents procédés sont mis en œuvre, comprenant par ordre croissant d'efficacité et de coût, l'épaississement, la déshydratation et le séchage.

◊ **L'épaississement**

L'épaississement consiste à réduire le volume à transférer sur la filière et permet d'obtenir une boue dont la concentration varie de 15 à 100 g/l (in JARDI, 2002).

L'épaississement est réalisé sous l'action de forces mécaniques, et s'effectue selon différentes méthodes :

- Flottation : de fines bulles d'air permettent à la boue de remonter en surface, par captation. Ce procédé est principalement réservé aux boues biologiques de faible densité.
- Par égouttage : la boue floculée est épaissie par égouttage sur une toile filtrante.

- Par centrifugation : la boue flocculée est épaissie sous l'effet de la force centrifuge (in BELGHAOUTI, 2012).

◊ **La déshydratation**

La déshydratation consiste aussi à réduire le volume des boues. Elle correspond en fait, à une forte augmentation de la siccité (30 à 40 % de matière sèche), et modifier l'état physique des boues, celles ci passent de l'état liquide à l'état pâteux ou solide. Généralement, une boue est jugée apte à être déshydratée lorsque sa concentration est au minimum de 15g/l. Les techniques d'hydratation sont :

* Déshydratation mécaniques : On distingue deux modes de déshydratation mécanique :

- La déshydratation sur décanteuse centrifuge
- La déshydratation par filtration : Il existe deux techniques : Sur filtre à bande, Sur filtre à plateau (in BELGHAOUTI, 2012).

◊ **Le séchage**

Le séchage élimine l'eau en grande partie ou en totalité par évaporation, soit par voie naturelle (lits de séchage), soit par voie thermique. La technique des lits de séchage se réalise 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. Le séchage thermique permet une élimination de la quasi-totalité de l'eau (siccité d'environ 95%). Les boues sont pulvérulentes ou en granulés (in JARDI, 2002).

➤ **Les traitements d'hygiénisation :**

On peut définir l'hygiénisation comme un "traitement qui réduit à un niveau non détectable les agents pathogènes présents dans les boues". L'hygiénisation des boues ne s'impose que dans certains contextes d'utilisation agronomique ; la plupart des boues épandues ne sont pas hygiénisées, la maîtrise du risque sanitaire reposant de façon satisfaisante sur l'application de règles de bonnes pratiques (in DEROUICHE, 2011).

Après avoir subi les différents traitements, les boues doivent être éliminées sans nuire à l'environnement. Il existe trois grandes voies principales d'élimination:

- L'épandage ;
- L'incinération ;
- La mise en décharge (BODET, 2001).

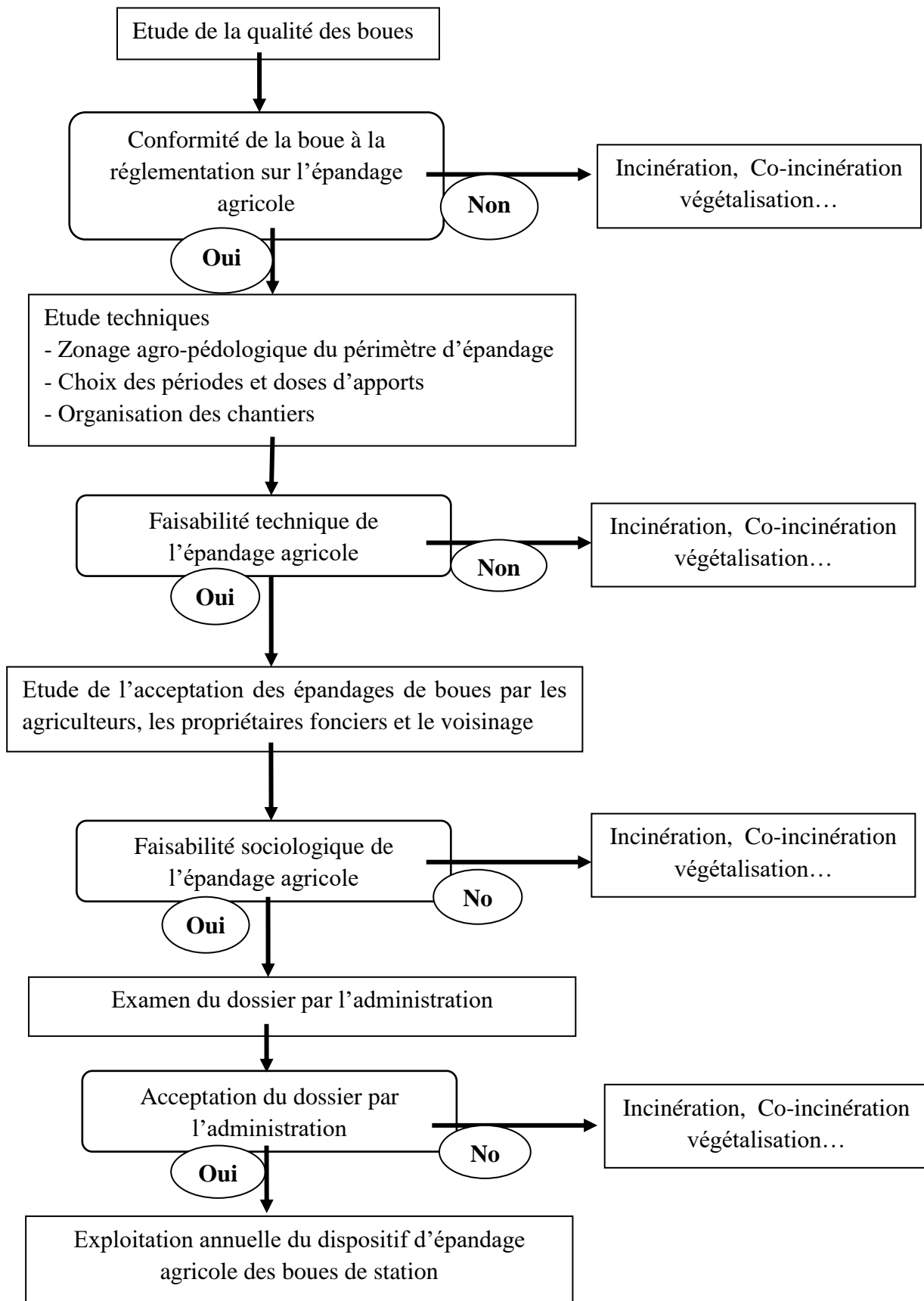


Figure 1: Etudes préalables au choix d'une filière d'élimination des boues d'une STEP (BODET, 2001).

3. LES TYPES DES BOUES RESIDUAIRES

L'appellation des différents types de boues résulte de la combinaison de plusieurs critères :

- La nature de l'effluent (urbain, laiterie, abattoir, papeterie...),
- La caractéristique du traitement des eaux (primaire, physico-chimique, biologique),
- Le procédé de stabilisation (aérobie, anaérobie, chaulage, compostage),
- L'état physique des boues (liquide, pâteuse, solide...),
- Le type de matériel de déshydratation (filtre-pressé, centrifugation, table d'égouttage...). (in DEROUICHE, 2011).

En théorie il existe un grand nombre de types de boues selon des combinaisons possibles. Toutefois, en résumant les situations les plus fréquemment rencontrées en :

3.1. Selon l'état physique

➤ **Les boues liquides** sont issues de l'épaississement des boues biologiques par voie gravitaire (siccité 2-3% MS) ou mécanique (5-7 % MS). elles proviennent des petites stations des zones manipulent à la façon du lisier de porcs ou de bovin; une croissance importante des peuplements forestiers lorsqu'il y a eu apport de boues liquides (in KAROUNE, 2008).

➤ **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 (BODET, 2001).

➤ **Les boues solides chaulées** résultent soit de boues pâteuses traitées à la chaux (siccité 30% MS), soit boues liquides épaissies traitées à la chaux et déshydratées mécaniquement (siccité 40% MS). Elles sont produites par des stations de taille moyenne ou de grande taille et représentent plus de 30 % des tonnages de boues évacuées (CANLER and PERRET, 2013). 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 (BODET, 2001).

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

3.2. Selon l'origine

Selon les différentes phases de traitement des eaux usées, on obtient des boues à caractéristiques différentes:

➤ **Les boues primaires** : qui se forment par le dépôt des matières décantables contenues dans les eaux usées non traitées ; les boues fraîches sont conduites par une trémie à boues d'où elles peuvent être retirées avec une teneur en eau d'environ 90-95% ; aux boues primaires, on ajoute d'habitude les boues flottantes, dans la mesure où elles ne sont pas trop huileuse et ne doivent donc pas être traitées séparément (KOLLER, 2004).

➤ **Les boues physico-chimiques** : résultantes d'un traitement physico-chimique, variante du type précédent, les matières organiques particulaires ou colloïdales contenues dans les eaux usées sont agglomérées par addition d'un réactif coagulant (sels de fer ou d'aluminium); 90 % des MES peuvent ainsi être captées. Séparées par décantation, les boues obtenues renferment une partie importante de sels minéraux issus des eaux brutes et de l'agent coagulant (in AZABI, 2012).

➤ **Les boues de l'épuration biologique ou boues secondaires**: ce sont les boues issues des clarificateurs ou décanteurs après traitement biologique que se soit en culture libre (boues activées) ou en culture fixée (lits bactériens, disque biologique). Elles sont donc constituées essentiellement de corps bactériens et de leurs sécrétions. Elles sont de couleur sombre, très organiques (75%) plus homogène et ont moins d'odeur que les boues primaires (in RAMDANI, 2005).

➤ **Les boues mixtes** : C'est le mélange des boues primaires et de boues activées ou provenant de lits bactériens (KOLLER, 2004). Leur aptitude à la concentration par rapport aux boues biologiques est améliorée lors d'ajout de boues primaires (CANLER et PERRET, 2013).

➤ **Les boues de fermentation** (ou boues de digestion), qui sont les boues fraîches 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, 2004).

En résumé, le schéma suivant représente les différentes étapes du traitement épuratoire de la file eau en lien avec les différents types de boue associées.

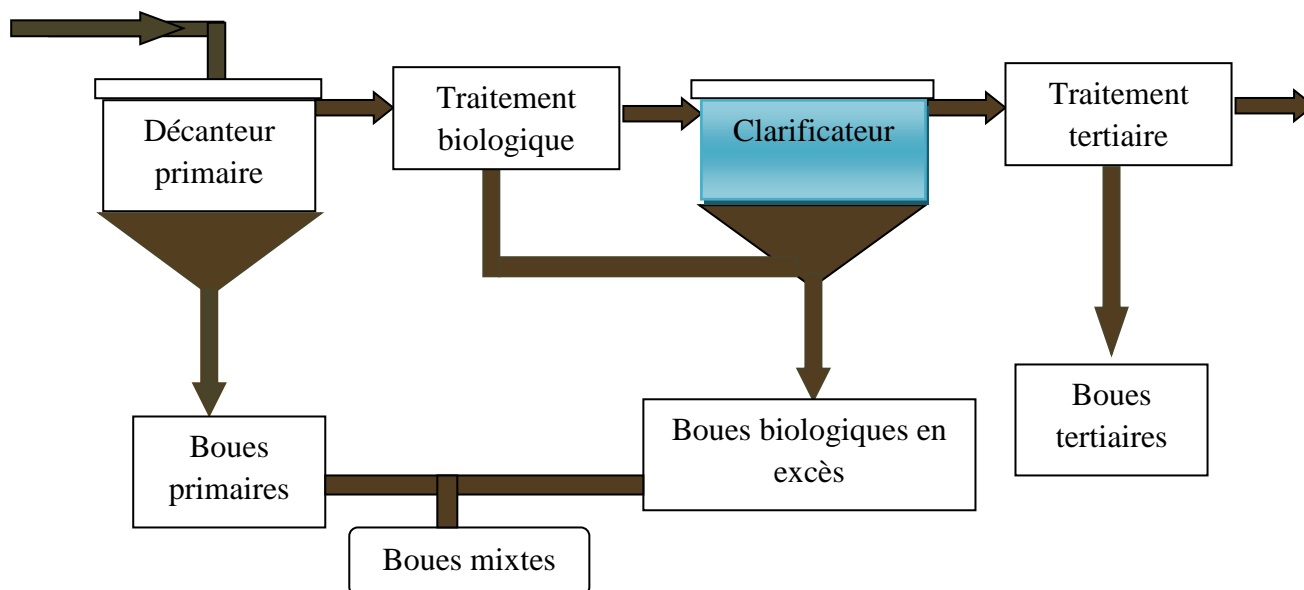


Figure 2: Schéma des différents types de boues dans un procédé de traitement par boues activées (in TELLI, 2013).

4. COMPOSITION DES BOUES RESIDUAIRES

La qualité des eaux usées détermine la qualité des boues. Les stations d'épuration recueillent des rejets contenant un très grand nombre de polluants selon les activités raccordées au réseau d'assainissement. Les boues d'épuration peuvent contenir des composés dont les effets sont indésirables, même pour la santé de l'homme et des animaux. Ces composés, au dessus d'un certain seuil, peuvent rendre certaines boues impropres à l'épandage agricole (BELAID, 2015).

4.1. Caractéristiques et composition des eaux usées

Selon leurs origines, les eaux usées se caractérisent par une grande variabilité de débits, mais aussi de composition. Elles peuvent contenir en concentrations variables :

- Des matières en suspension plus ou moins facilement décantables ou coagulables,
- Des matières colloïdales ou émulsionnées : argiles, microorganismes, macromolécules hydrophobes (organiques huiles, graisses, hydrocarbures, etc.)
- Des matières en solution de nature organique ou minérale, ou sous formes de gaz dissous,
- Des microorganismes végétaux (algues, plancton...) ou animaux (protozoaires, bactéries,...) (RODIER *et al.*, 2009).

La composition des boues varie en fonction de l'origine des eaux usées, de la période de l'année et de type de traitement pratiqué dans la station d'épuration (in KAROUNE, 2008).

Les boues des stations d'épuration sont constituées généralement de :

- Particules minérales (argiles, carbonates, silicates, phosphates...);
- Débris organiques grossiers (fibres textiles, résidus végétaux, matières plastiques);
- Biomasse morte (résidus de cellules bactériennes, résidus d'algues...);
- Polymères organiques issus de l'activité de la biomasse (polysaccharides, protéines);
- constituants minéraux et organiques solubles. (BELAID, 2015).

En générale, Trois sortes d'éléments sont présents (ou susceptibles de l'être) dans les boues :

- Des matières organiques,
- Des éléments fertilisants,
- Des composés indésirables et des nuisances olfactives (in KAROUNE, 2008).

4.2. Matière organique

La concentration en matière organique peut varier de 30 à 80 %. La matière organique des boues est constituée de matières particulaires éliminées par gravité dans les boues primaires, des lipides (6 à 19 % de la matière organique), des polysaccharides, des protéines et des acides aminés (jusqu'à 33 % de la matière organique), de la lignine, ainsi que des produits de métabolisation et des corps microbiens résultant des traitements biologiques (digestion, stabilisation) (in FARTAS *et al.*, 2014).

4.3. Les éléments fertilisants

Selon la dose appliquée, les boues peuvent couvrir, en partie ou en totalité, les besoins des cultures en azote, en phosphore, en magnésie, calcium et en soufre ou peuvent aussi corriger des carences à l'exception de celle en potassium. Les éléments en traces tels que le cuivre, le zinc, le chrome et le nickel présents dans les boues sont aussi indispensables au développement des végétaux et des animaux (in AMIR, 2005).

La disponibilité du phosphore, de l'azote, et du taux de matière organique des boues est conditionnée par le procédé de traitement utilisé dans la station (in DEROUICHE, 2011).

4.4. Des composés indésirables et des nuisances olfactives

Les composés indésirables sont les éléments traces métalliques, les composés traces organiques et les germes pathogènes en plus des nuisances olfactives :

❖ Les éléments traces métalliques ou ETM

La présence des métaux lourds dans les boues de station d'épuration constitue à ce jour le frein principal à l'utilisation de ce type de sous-produit en agriculture (in KAROUNE, 2008). Les ETM sont naturellement présents dans les sols et certains même sont indispensables aux plantes, ils font partie des oligo-éléments.

Des expérimentations de longue durée en France et à l'étranger ont permis de montrer que les taux de transfert des ETM du sol vers les végétaux sont inférieurs à 1% des quantités apportées sur les sols. Mais, selon la nature des eaux épurées, la teneur en certains éléments dans les boues peut s'élever considérablement. Et des apports répétés de boues par épandage pourrait, à long terme, provoquer dans les sols des accumulations incompatibles avec la qualité des cultures. Les ETM ont une origine industrielle (Cd, Ni, Hg, Cr), domestique (Cd, Cu, Pb) et pluviale (Ni, Pb, Zn). Les métaux les plus toxiques pour l'homme sont Cd, Hg et Pb (BELAID, 2015).

Il existe une politique très rigoureuse de contrôle des rejets qui permet de produire des boues de faible teneur en ETM, même pour les grandes agglomérations, et ainsi préserver les teneurs naturelles du sol. Il est aussi important de noter que l'apport des boues n'est pas la principale source de contamination des sols en ETM. En effet, les présents dans les sols peuvent avoir plusieurs origines (BELAID, 2015).

❖ Les composés traces organiques ou CTO

Les composés traces organiques sont des produits chimiques (hydrocarbures, détergents, restes de peinture et de solvant, produits de nettoyage ou de désinfection...) qui sont plus ou moins dégradés par l'activité microbologique du sol. Cependant, au même titre que les ETM, les CTO peuvent devenir toxiques pour les micro-organismes des sols à haute dose ; or ces derniers sont indispensables à la fertilité des sols (BELAID, 2015).

❖ Les micro-organismes pathogènes

Les micro-organismes jouent un rôle essentiel dans les processus d'épuration, aussi bien en station que dans le sol (BELAID, 2015). De nombreux organismes pathogènes, tant pour l'homme que pour les animaux, sont excrétés dans les matières fécales des individus infectés ou porteurs sains. Ces germes peuvent dès lors être rencontrés dans les eaux usées municipales et industrielles et finalement se retrouver dans les boues de stations d'épuration (JACOB *et al.*, 2002).

On les classe parmi les virus, les bactéries, les protozoaires, les champignons et les helminthes. La concentration d'une eau usée en germes pathogènes dépend du secteur d'activité duquel elle provient : les eaux provenant d'abattoirs ou de toutes industries traitant de produits d'animaux sont plus largement contaminées. Utilisés uniquement par les grosses stations d'épuration, les procédés d'hygiénisation (traitement thermique et chaulage des boues) permettent d'éliminer totalement tous les germes pathogènes connus (BELAID, 2015).

❖ Des nuisances olfactives

Les boues résiduaires sont les produits ultimes de l'assainissement de l'eau, et on imagine facilement que la digestion dans les stations de l'eau des WC, du lave vaisselle, parfois des caniveaux et des autres eaux souillées engendre des odeurs désagréables. Certains exploitants de stations d'épuration optent pour le compostage des boues. En effet, le fait de transformer les boues en compost permet non seulement de mieux maîtriser les odeurs, mais aussi de changer l'aspect des gadoues en de conventionnels terreaux. Et, en ce qui concerne l'épandage des boues liquides, processus le plus malodorant, un simple enfouissement de quelques centimètres lors de l'épandage permet de pallier ce désagrément. Il est aussi impératif de noter que comparativement, les effluves malodorants dus à l'épandage des boues sont minimes par rapport à l'épandage des déjections animales (lisier de porcs, excréments bovins...) (BELAID, 2015).

5. PROPRIETES ET CARACTERISTIQUES DES BOUES RESIDUAIRES

Il s'agit de caractéristiques générales relatives à chacune des deux phases constitutives, qui s'avèrent être d'utiles points de repère.

5.1. Caractéristiques de la phase solide

- Concentration en matières sèches (MS) de la boue obtenue par séchage à 105 °C d'un échantillon de boue ensuite pesé.
- Teneur en matière volatiles (MV) (matière organique) qui se détermine par calcination à 600 °C d'un échantillon de boue préalablement séché à 105 °C.
- Teneur en matières minérales (MM) qui se calcule à partir de la précédente :

$$\text{MM (en \%)} = 100 - \text{MV.}$$

- Composition élémentaire pondérale. Sa détermination est longue et délicate. Aussi on se contente généralement du but recherché (par exemple valorisation agricole), notamment la recherche d'éléments intéressants (carbone, azote et phosphore), ou gênants (éléments métalliques potentiellement toxique, composés organiques tels que pesticides, détergents...).

Pour l'expression des concentrations de boues, à partir d'un certain seuil, la concentration devient aléatoire on préfère parler de siccité qui est la quantité en poids, de matières sèches, contenue dans un poids totale de boue ; siccité= %MS dans la boue brute.

L'humidité est complément de la siccité, soit $\% \text{MS} + \% \text{H}_2\text{O} = \text{boue brute}$ (KOLLER, 2004).

5.2. Caractéristiques de la phase liquide

La composition du liquide interstitiel peut influencer grandement sur le comportement de la boue (stabilité) tout en entrant en ligne de compte dans l'évaluation des risques potentiels présentés en cas de mise en décharge ou d'épandage des boues (pollution des eaux souterraines).

Il est donc intéressant de mesurer :

- Le Ph, la salinité et l'alcalinité ;
- La teneur en acides volatils (composés intermédiaires d'une dégradation anaérobie des matières organiques) ;
- Les DBO₅ et DCO, grandeurs permettant l'appréciation de l pollution organique ;
- Certains composés comme les sulfures (indice d'un milieu réducteur) (KOLLER, 2004).

6. SITUATION ACTUELLE

Le parc des stations d'épuration d'eaux usées urbaines en Algérie est constitué essentiellement de procédés d'épuration à « Boues activées », et à un degré moindre « Lagunage naturel ». Ce dernier produit des boues de façon périodique (période variant de 5 à 10 ans), une périodicité assez longue qui ne nécessite pas la gestion de ces boues au niveau de la station (in TELLI, 2013).

Le procédé à boues activées produit des boues de manière régulière (Journalière) qui oblige leur gestion sur le site de la station avant destination finale. De cette contrainte est née la filière de traitement des boues en parallèle avec celle de l'eau pour une meilleure maîtrise du devenir de ce sous produit de traitement. Les procédés de traitement des boues existants au niveau des stations d'épuration dépendent de l'origine et de la nature des boues produites par ces stations (in TELLI, 2013). Ainsi les stations à moyenne charge sont dotées de procédé de stabilisation et celles à faible charge ne le sont pas car elles produisent des boues ayant été déjà stabilisées au niveau de la filière de traitement de l'eau.

6.1. Les formes de valorisation des boues résiduaires

Pour les STEP, les boues sont un produit final de chaque cycle d'épuration. Ces boues doivent être enlevées des bassins afin de permettre la réalisation de nouveaux cycles d'épuration.

Aussi, pour les STEP la question centrale est de trouver le moyen de les enlever et pour cela de leur trouver une utilisation (BELAID, 2015). Il existe trois voies principales d'élimination et/ou de valorisation des boues :

6.1.1. La mise en décharge contrôlée

Elle représente 20 à 25% du tonnage, la mise en décharge contrôlée consiste en un enfouissement des boues (souvent mélangées avec les ordures ménagères). Les boues doivent être préalablement stabilisées et déshydratées (humidité maximale de 70 %).

Cette solution a perdu progressivement de son intérêt et se retrouve actuellement interdite pour des raisons financières (procédure de fermeture...) et pour des problèmes environnementaux tels que les odeurs nauséabondes, pullulation de moustiques, entraînement d'éléments fertilisants (nitrates, phosphates) et de produits toxiques par les eaux superficielles et contamination des nappes d'eaux souterraines. Les décharges ne doivent plus accepter que des déchets qui ne peuvent plus être raisonnablement valorisés ou à caractère non dépolluables ou dangereux appelés aussi déchets ultimes (in AMIR, 2005).

L'échéance prévue de juillet 2002 ne pouvant être respectée dans l'ensemble des départements, ni dans des autres pays, une directive européenne du 26 avril 1999 a planifié la diminution progressive (d'au moins 65 %) de la mise en décharge des déchets municipaux biodégradables, dont les boues d'épuration, jusqu'en 2015 (in JARDI, 2002).

6.1.2. L'incinération

L'incinération est un procédé de destruction et de minéralisation des boues par oxydation thermique. Elle représente 15% à 20% du tonnage des boues (in JARDI, 2002) . Elle peut se réaliser dans un four spécifiquement dédié à la combustion des boues ou en Co-incinération dans une usine d'incinération des ordures ménagères. Dans tous les cas, un traitement des fumées est nécessaire. La boue subit une combustion totale à une température de l'ordre de 900°C et avec un temps de séjour de quelques secondes (in RENO, 2006).

L'incinération génère des sous-produits: des fumées qui sont traitées avant d'être renvoyées à l'atmosphère, des cendres constituées de la matière minérale de la boue, des résidus d'épuration des fumées où sont piégés les polluants dangereux grâce au traitement des gaz de combustion. L'incinération présente plusieurs intérêts : destruction de la boue, réduction du volume de déchets, hygiénisation totale de la boue et valorisation possible de la chaleur des fumées en chaleur et/ou en électricité (in RENO, 2006).

6.1.3. Utilisation agricole des boues (l'épandage)

La valorisation agricole des boues résiduaires peut être considérée comme le mode de recyclage le plus adapté pour rééquilibrer les cycles biogéochimique (C, N, P..), pour la protection de l'environnement et d'un très grand intérêt économique. Elle vise à ménager les ressources naturelles et à éviter tout gaspillage de matière organique dû à l'incinération ou à l'enfouissement dans les décharges. Les boues résiduaires peuvent ainsi remplacer ou réduire l'utilisation excessive d'engrais coûteux (in AMIR, 2005).

L'épandage se fait sur des terres agricoles et représente 55 à 65% du tonnage des boues. Il s'agit de la voie privilégiée et la plus satisfaisante pour le recyclage des boues d'épuration depuis 1975 (in JARDI, 2002).

La valorisation agricole des boues peut se faire de plusieurs façons : épandage de boues liquides, pâteuses, séchées ou encore compostées. L'épandage nécessite un encadrement réglementaire et technique rigoureux pour assurer la pérennité de cette filière (RENOU, 2006). L'application des boues doit suivre des règles d'épandage décrites par l'arrêté du 08 janvier 1998 (in AMIR, 2005).

L'utilisation des boues en sylviculture semble à priori, poser moins de problèmes qu'en agriculture, en effet, les risques de toxicité vis-à-vis de l'homme par exemple, par passage de métaux lourds dans la chaîne alimentaire n'existe pas (in ROULA, 2005)

6.2. Situation de traitement des eaux usées

Le traitement d'une eau usée donne un effluent qui n'altère pas l'état du milieu récepteur dans une mesure incompatible avec les exigences de l'hygiène publique ; il ne doit pas porter atteinte aux intérêts et activités telles que l'alimentation en eau des hommes, des animaux et des plantes, les intérêts piscicoles ayant notamment une valeur de test à l'égard des pollutions. Une eau épurée doit répondre à certains critères fondamentaux ; en pratique, on s'assurera en outre que :

- La Température de l'eau ne doit pas passer 30°C ;
- Sa couleur ne doit pas provoquer une coloration visible dans le milieu récepteur ;
- PH doit être de la neutralité (in TELLI, 2013).

L'Office National d'Assainissement (ONA) est doté d'un conseil d'Orientatation et de Surveillance (COS), d'une Direction Générale, de douze (12) zones, de deux (02) directions assainissement et de 43 unités réparties sur le territoire national, dont fait partie l'unité de

Guelma (ONA, 2011). Ces stations d'épuration d'eaux usées urbaines est constitué essentiellement de procédés d'épuration à « Boues activées », et à un degré moindre « Lagunage naturel » (in TELLI, 2013).

L'Algérie produit annuellement 750 millions de mètres cubes d'eaux usées, mais seulement entre 200 et 300 millions mètres cubes sont traitées (in TELLI, 2013). 60 % de ces eaux usées traitées sont rejetées soit loin des périmètres d'irrigation et des barrages soit en mer, ce qui rend leur réutilisation en irrigation peu rentable. Ainsi, seulement 240 millions de m³ sont potentiellement utilisables en irrigation en raison de la localisation des points de rejet (in ATTAB, 2011).

La réutilisation des eaux usées épurées « **REUE** » est une action volontaire et planifiée qui vise la production de quantités complémentaires en eau pour différents usages. Aujourd'hui la stratégie nationale du développement durable en Algérie se matérialise particulièrement à travers un plan stratégique qui réunit trois dimensions à savoir : Sociale, Economique et Environnementale (Anonyme, 2016). Les principales utilisations des eaux usées épurées sont :

- **Utilisations agricoles** : -irrigation- la plus répondeuse, permettant d'exploiter la matière fertilisante contenue dans ces eaux réalisant ainsi une économie d'engrais ;
- **Utilisations Municipales** : arrosage des espaces verts, lavage des rues, alimentation de plans d'eau, lutte contre les incendies, l'arrosage des terrains de golf, des chantiers de travaux publics, arrosage pour compactage des couches de base des routes et autoroutes.
- **Utilisations industrielles** : refroidissement ;
- **Amélioration des ressources** : recharge des nappes pour la lutte contre les rabattements des nappes et la protection contre l'intrusion des biseaux salés en bord de mer (Anonyme, 2016).

6.3. Situation de traitement et la valorisation des boues en Algérie

La valorisation agricole des boues est le moyen le plus simple et le plus courant d'utiliser ces boues. D'une part, le gestionnaire des stations trouvait un moyen économique d'évacuer les boues. D'autre part, les boues présentent un intérêt agronomique pour l'agriculteur dans la mesure où les boues peuvent avoir des caractéristiques similaires de celles des engrais, d'autant plus qu'elles seront cédées gratuitement aux agriculteurs dans un premier temps. Ceci avant

l'établissement d'une convention après avoir évalué les coûts de transport notamment et la valeur du produit lui-même.

Par ailleurs, le travail, initié par le ministère des Ressources en Eau, pour l'élaboration de la norme Algérienne de la valorisation agricole des boues d'épuration, la norme NA 17 731 « Valorisation des boues des stations d'épuration ». Cette norme a pour objet de fixer les dénominations et les spécifications physico-chimiques et biologiques des boues issues des ouvrages de traitement des eaux usées urbaines et les conditions de leurs utilisations. Elle fixe également les restrictions de leur usage en fonction de la concentration en éléments traces métalliques et des agents pathogènes, avec un guide qui fixe les conditions d'utilisation de ces boues. Avant de lancer l'utilisation des boues issues de l'épuration des eaux usées, il est indispensable de sensibiliser, d'informer et de former les agriculteurs sur les normes de valorisation de ces boues en tant que fertilisants. Les boues ne peuvent pas être utilisées pour toutes les cultures et pour tous les types de sol, ajoutant que la fréquence de l'enrichissement du sol avec les boues est d'une seule fois tous les trois ans (ONA, 2017).

L'ONA s'engage, ainsi, dans la promotion de la valorisation de ces boues, par la mise en œuvre d'actions concrètes durables qui s'intègrent dans le respect de l'environnement.

En effet, la norme algérienne de la valorisation agricole des boues de station d'épuration, en l'occurrence la norme NA 17 731, a été publiée par l'Institut algérien de normalisation (IANOR) en novembre 2017, Une journée d'étude sur l'économie de réutilisation des eaux épurées a déjà été organisée au profit des agriculteurs du périmètre de Hennaya (Tlemcen). D'autres actions sont prévues à Ain Temouchent et Sidi Belabes. Ces actions font partie d'un programme national visant à promouvoir la valorisation des boues en les exploitants dans l'agriculture.

A la fin de l'année 2015, la production des boues au niveau des 58 STEP de type boues activées, gérées par l'ONA, était estimée à 54.000 tonnes de matières sèches par an. Elle a atteint, en 2016, les 90.000 tonnes de matières sèches par an, produites par 63 stations à boues activées.

A horizon 2020, la production de boue devrait augmenter à plus de 50 % et devrait atteindre une quantité estimée à plus de 150.000 tonnes/an.

La valorisation agricole des boues est le moyen le plus simple et le plus courant d'utiliser ces produits. D'une part, le gestionnaire des stations trouve un moyen économique d'évacuer les boues et d'autre part, les boues présentent un intérêt agronomique pour l'agriculteur dans la mesure où elles peuvent avoir des caractéristiques similaires à celles des engrais. Ces boues seront cédées gratuitement aux agriculteurs dans un premier temps et ce, avant l'établissement d'une convention, après avoir évalué les coûts de transport notamment et la valeur du produit lui-même (ONA, 2017).

Chapitre 2 :

*Aperçu sur la
zone d'étude*

1. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE (WILAYA DE GUELMA)

1.1. Localisation géographique

La wilaya de Guelma se situe au Nord-est du pays et constitue, du point de vue géographique, un point de rencontre, voire un carrefour entre les pôles industriels du Nord (Annaba et Skikda) et les centres d'échanges au Sud (Oum El Bouaghi et Tébessa). Elle occupe une position médiane entre le Nord du pays, les Hauts plateaux et le Sud. La wilaya de Guelma s'étend sur une superficie de 3.686,84 Km². Elle est limitrophe aux Wilayas de:

- Annaba, au Nord, avec son port aéroport, ainsi qu'une base industrielle aussi importante, distance à quelques 60 Km.

- El Tarf, au Nord-est, wilaya agricole et touristique port de pêche, frontalière à la Tunisie.

- Souk Ahras, à l'Est, région frontalière à la Tunisie, est à 70 Km.

- Oum El-Bouaghi, au Sud, porte des hauts plateaux, est à 120 Km.

- Constantine, à l'Ouest, son aéroport, ses potentialités de capital de l'est du pays est à une 100 de Km.

- Skikda, au Nord-ouest, avec son port et sa basse pétrochimique, est à moins de 80 Km (A.N.D.I, 2015) (**Fig.03, 04**).



Figure 03 : Image satellitaire de la wilaya de Guelma (50 Km).



Figure 04 : Localisation de la STEP de Guelma (500 m).

1.2. Climatologie

Le territoire de la Wilaya se caractérise par un climat subhumide au centre et au Nord et semi aride vers le Sud. Ce climat est doux et pluvieux en hiver et chaud en été (A.N.D.I, 2015).

L'étude des données climatologiques est une opération indispensable dans toutes les approches, car elle facilite la compréhension des mécanismes d'alimentation et de circulation des eaux naturelles. En revanche, pour étudier les mécanismes de la pollution des eaux, il est important d'étudier les données climatiques afin de pouvoir déterminer le bilan hydrologique, à savoir les précipitations, l'évapotranspiration, le ruissellement et l'infiltration.

1.2.1. Pluviométrie

La précipitation est la totalité de la lame d'eau quantifiée par la pluviométrie, elle est d'origines divers : pluie, neige, etc. Elle est un facteur climatique essentiel, conditionnant l'écoulement saisonnier et par conséquent le régime des cours d'eau. L'étude nécessite notamment une analyse minutieuse des données pluviométriques. Cette analyse aboutit à l'évaluation et à la quantification des différentes franges d'eau de surface, souterraines et atmosphériques (**Fig.05**) (in BEDOUH, 2014) (Annexe 1).

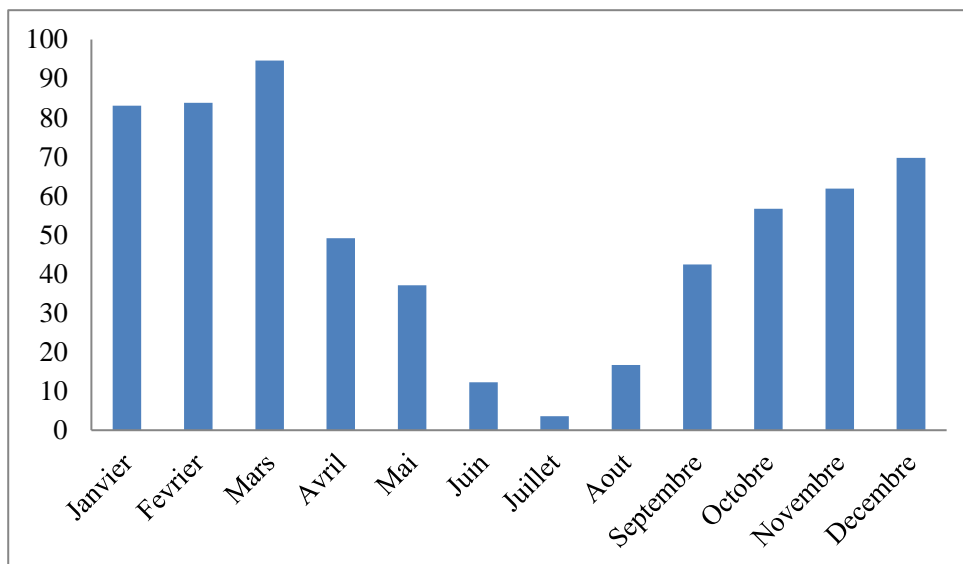


Figure 05 : Précipitation moyenne entre 2005 et 2015 (AYACHA *et al.*, 2016).

La plus grande valeur de précipitation à été enregistrée au mois de Mars avec 95 mm, par contre le mois de Juillet a la faible teneur avec 5 mm de précipitation. La différence de précipitations entre le mois le plus sec et le mois le plus humide est de 90 mm.

1.2.2. La Température

La température est un facteur climatique important liée à la radiation solaire, sa variation influe sur le bilan hydrique par la transformation de l'eau en vapeur et par conséquence sur la végétation du fait qu'elle conditionne l'évapotranspiration (BELTRANDO et CHEMERY, 1995).

Les températures moyennes mensuelles les plus élevées sont enregistrées pendant l'été et les mois les plus chaud sont les mois de juillet et aout avec une moyenne respective de 27,4°C et 27,1°C. Les températures moyennes les plus basses sont observées en hiver avec un minimum de température durant les mois de janvier et février avec des moyennes respective de 9,6°C et 9,7°C (Fig.06) (Annexe 2).

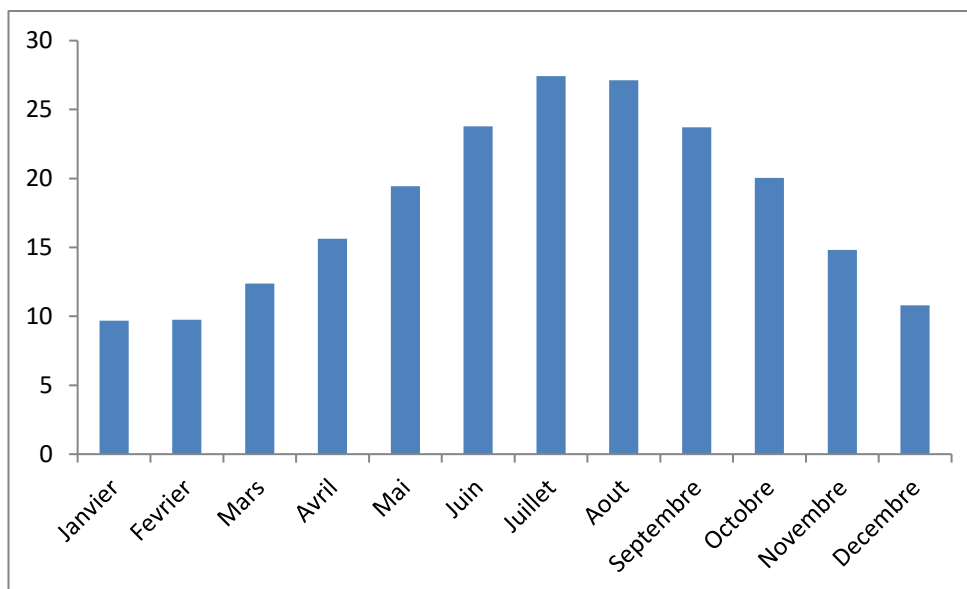


Figure 06 : Température moyenne entre 2005 et 2015 (AYACHA *et al.*, 2016).

1.2.3. L'humidité relative de l'air

L'humidité de l'air joue un rôle important dans l'évaporation. Plus l'air est humide moins il est apte à absorber de l'humidité supplémentaire. L'humidité élevée atténue la sécheresse et conditionne favorablement le développement des plantes (BELTRANDO and CHEMERY, 1995).

Les moyennes mensuelles de l'humidité relative de l'air ne diminuent pas en dessous de 60%. L'humidité relative est en général plus élevée pendant les mois les plus froids. Elle atteint son maximum le mois de janvier (77,6%) alors que le minimum est observé le mois de juillet (56,2) (Fig.07) (Annexe 3).

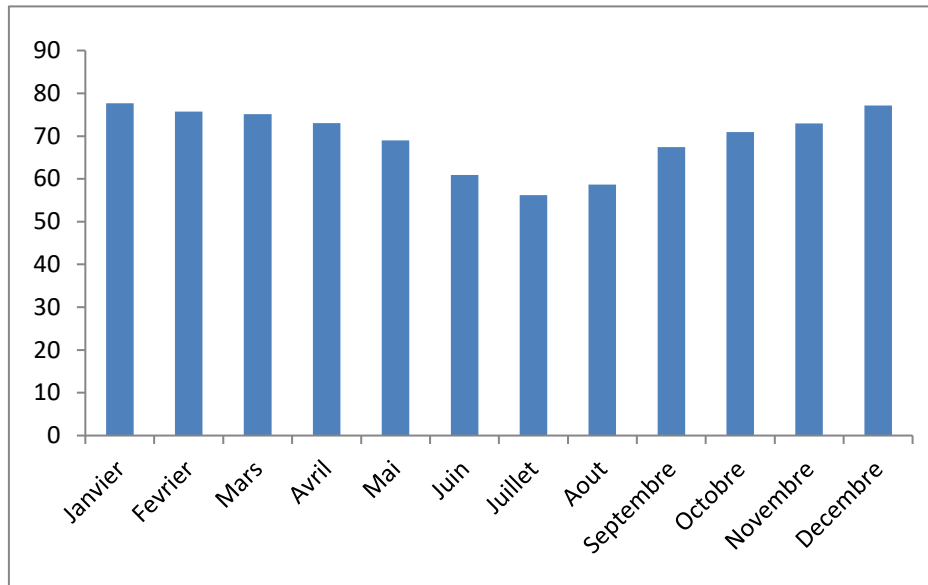


Figure 07 : Humidité moyenne entre 2005 et 2015 (AYACHA *et al.*, 2016).

1.2.4. Le vent

Le vent est un facteur important du climat, il influe sur la température, l'humidité, et l'évaporation. La direction, la fréquence et la vitesse sont variables au cours de l'année. En générale, la connaissance de la vitesse et de la direction des vents est primordiale pour la mise en place d'un ouvrage quelconque (**Fig.08**) (AYACHA *et al.*, 2016) (Annexe 4).

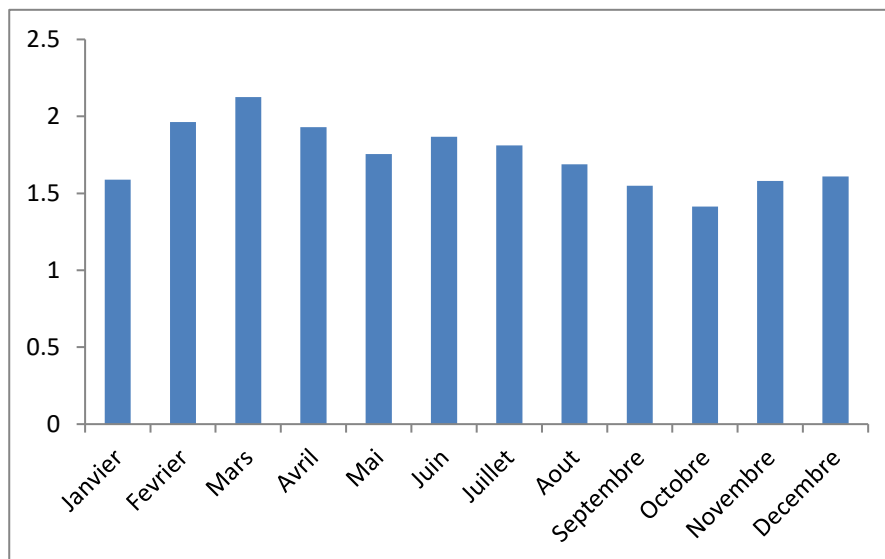


Figure 08 : Vent moyenne entre 2005 et 2015 (AYACHA *et al.*, 2016).

Les vents dominant dans la région avec une vitesse assez constante au cours de l'année, entre 1,36 et 2,3 avec un maximum en hiver et un minimum en automne.

2. PRESENTATION DE LA STEP

2.1. Localisation géographique

La station d'épuration des eaux usées de Guelma est fonctionnelle depuis le 18 Février 2008, elle occupe un terrain agricole de 8 hectares. Elle se situe à 1 km environ au Nord de la ville sur le flanc droit de la vallée développée par l'Oued Seybouse et sur la route national N° 21 menant à Annaba à la sortie de l'agglomération (ONA, 2011). Les responsables de la station se fixent comme objectif l'épuration de 43 388 m³/j d'eaux usées de la ville de Guelma (AYACHA *et al.*, 2016). Elle utilise le procédé de culture libre (boue activée) comme procédé d'épuration.



Figure 09 : Maquette de la STEP Guelma (Prise personnelle).

2.2. Caractéristiques techniques de la STEP

- Capacité : 200.000 équivalent/habitant
- Débit normale :
 - Débit journalier en temps de pluie : 43399m³/j
 - Débit journalier en temps secs : 32000 m³/j
 - Débit de pointe : 4182 m³/j
- Procédé de traitement : boue activée
- Milieu à protégé : ville de Guelma
- Commune et nombre d'habitant raccordées à la STEP : 119906
- Taux de raccordement : 98%
- Nature de flux : effluent domestique uniquement
- Milieu récepteur : oued Seybouse (ONA, 2011).

2.3. Consistance physique

- Ouvrage de prétraitement (dégrillage, dessablage-dégrossissage) ;
- Bassin de décantations 1 et 2 ;
- Bassin d'aération ;
- Bassin de clarification ;
- Bassin d'épaississement ;
- Bassin de stabilisation ;
- Lits de séchage: 02 compartiments ;
- Bâtiment d'exploitation ;
- Bloc bureau ;
- Atelier et magasin pour le matériel de maintenance ;
- Bloc de 06 logement (ONA, 2011).

3. LA NATURE DES EAUX

La STEP Guelma assure une épuration par boue activée des eaux uniquement urbaines et pas des eaux industrielles de la ville de Guelma. Ces eaux usées urbaines sont collectées par un réseau d'assainissement. Ce réseau est de type unitaire. Les effluents bruts arrivent à la station d'épuration sur deux bassins versant par un ensemble de réseaux d'assainissement existant. La STEP est alimentée par 02 conduites de refoulement :

- SR1 : alimentée par Oued El Maiz, avec un débit de 1575 m³/h.
- SR2 : alimentée par Oued Skhoun, avec un débit de 1125 m³/h (in TABET, 2015).

4. LES TRAITEMENTS DES EAUX COLLECTEES

L'épuration des eaux usées dans la STEP de la ville de Guelma consiste à un prétraitement (dégrillage, dessablage et déshuilage), un traitement primaire par décantation, un traitement biologique secondaire par boues activées et un traitement tertiaire par chloration (in TABET, 2015).

4.1. Prétraitement

Le prétraitement consiste en trois étapes principales, qui permettent l'élimination des déchets insolubles, des sables et des graisses, lesquels éléments gêneraient les phases suivantes de traitement (ONA, 2011) (**Fig. 10**).



Figure 10: Ouvrage de prétraitement (dégrilleur, déshuilleur et déssableur) (Prise personnelle).

4.2. Traitement primaire

Cette étape est réalisée par deux (02) décanteurs avec un diamètre de 36 m, situés après les prétraitements et en amont de la filière biologique. Cette étape consiste à laisser décanter les effluents grâce à une vitesse peu élevée. Les matières décantées se retrouvent en font d'ouvrage (boues primaires) et doivent donc être traitées sur la filière boues. Le temps de séjour de l'eau dans les décanteurs varie de 24 h à 48 h (ONA, 2011) (**Fig. 11**).



Figure 11 : Les décanteurs primaires (Prise personnelle).

4.3. Traitement secondaire (biologique)

Cette étape est conçue sur le principe des boues activées à moyenne charge, afin d'éliminer la pollution carbonée. L'épuration par boue activée consiste à mettre en contact les eaux usées avec un mélange riche en micro-organismes appelés bactéries, par brassage pour dégrader la matière organique en suspension ou dissoute. Il y a une aération importante pour permettre l'activité des bactéries et la dégradation de ces matières (Bassin d'aération) (ONA, 2011).

Il est nécessaire de fournir aux bactéries épuratrices des conditions pour commencer leurs activités :

- La température : température idéal = 22 °C ;
- Le pH : de 7.3 jusqu'à 8 ;
- L'oxygène dissous grâce à des turbines d'aération (**Fig. 12**)



Figure 12 : Bassin d'aération (Prise personnelle).

4.4. Décantation secondaire

Une décantation permet de recueillir sous forme de boues les matières agglomérées par les bactéries (les boues plus denses que l'eau, tombent au fond du bassin ou elles sont raclées). Un clarificateur permet de séparer par décantation l'eau épurée déversant.

Tandis que les boues (secondaire) dont une partie sont évacuées vers le traitement des boues, et l'autre sont recyclées pour maintenir une masse biologique suffisante pour l'épuration (**Fig. 13**) (in TABET, 2015).



Figure 13 : Clarificateur (Prise personnelle).

4.5. Désinfection

La désinfection des eaux traitées est obtenue par une injection de 0.5 mg de Chlore actif dans un bassin de désinfection de volume de 730 m³, avant d'être rejetées dans le milieu naturel (Oued Seybouse) (ONA, 2011).



Figure 14 : Bassin désinfection (Prise personnelle).

4.6. Traitement des boues d'épuration

Une partie des boues secondaires est recerclée vers les bassins d'aération pour ne pas perdre la quantité des bactéries épuratrices.

4.6.1. L'épaississement

Les boues primaires et secondaires se mélangent au niveau de la bêche de mélange et forme des boues mixtes, après elle subit un passage directe vers l'épaississeur dont l'objectif est de réduire le volume des boues.



Figure 15 : Epaisseur (Prise personnelle).

4.6.2. la stabilisation

Les boues épaissies sont ensuite dirigées vers le bassin de stabilisation afin de :

- Réduire les matières organiques (aussi appelées matières volatiles) présente dans les boues, de manière à obtenir une stabilisation des boues.
- Transformer la texture des boues pour obtenir une bonne aptitude à la déshydratation.
- boues ainsi réduites et stabilisées peuvent également être déshydratées sur les lits de séchage.



Figure 16 : Le bassin de stabilisation des boues (Prise personnelle).

La stabilisation a pour but de réduire le pouvoir fermentescible des boues. Ces boues; une fois stabilisées sont acheminées vers les lits de séchage pour la déshydratation.

4.6.3. Le séchage dans des lits de séchage

Le séchage élimine l'eau en grande partie ou en totalité par évaporation naturelle dans des lits de séchage, le but de séchage est de réduire au maximum le volume des boues. La technique des lits de séchage se réalise à l'air libre sur des boues liquides épaissies et stabilisées (**Fig.17**).



Figure 17 : Lits de séchage (Prise personnelle).

La boue sèche est orientée vers l'épandage par quelques agricultures de la wilaya, mais la grande partie passe au stockage.

PARTIE
/
EXPÉRIMENTALE

Chapitre 3 :

Matériel et

méthodes

1. DESCRIPTION DES BOUES

Les boues d'origine primaire, secondaire et au niveau de l'épaississeur se présentent sous forme d'un liquide contenant des particules homogènes en suspension, la composition des boues dans ce stade est presque la même que pour les boues activées.

La couleur de boue au niveau des lits de séchage varie entre le noir, le brun et le gris et leur odeur est souvent très désagréable pour les boues les plus récentes et absente pour les boues qui sont plus séchées (in ROULA, 2005).

2. ECHANTILLONNAGE

Le prélèvement d'un échantillon est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté. Il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera données. L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modification des caractéristiques de l'échantillon (RODIER *et al.*, 2009).

Les prélèvements sont effectués au niveau des lits de séchage de la STEP Guelma, ces derniers sont composés de deux lignes, chaque ligne contient 8 lits de séchage avec une superficie totale de 15052 m² (ONA, 2011). Nous avons effectué trois prélèvements en fonction du temps de séjour des boues au niveau des lits de séchage; soit boues liquides (BL), boues médianes (BM) et boues sèches (BS).

Les prélèvements sont réalisés à une période définie où les conditions climatiques sont optimales (représentativité des communautés microbiennes). Ces conditions correspondent à un prélèvement dans un temps où les boues ne sont ni trop sèches ni trop humides : en période de pluie, attendre 2-4 jours que la boue ressuie un peu (in VIOLLET, 2015).

Le matériel de prélèvement doit faire l'objet d'une attention particulière (RODIER *et al.*, 2009), un matériel propre, lavé à l'eau et stérilisé au préalable, pour éviter la contamination.

Les divers prélèvements sont réalisés de préférence à l'aide d'une tarière, en tournant dans le sens des aiguilles d'une montre, introduire la tarière dans la boue afin d'obtenir une "carotte" complète.

Entre chaque prélèvement, enlever au maximum la boue restante sur la tarière afin d'éviter la contamination avec le prélèvement suivant. Laver le matériel dès lors que l'on change de site de prélèvement.

Mettre la totalité de la "carotte" dans des boîtes en plastique correspondantes à usage unique (in VIOLLET, 2015).

Pour faciliter le travail de l'analyse et l'exploitation des résultats tout en évitant les erreurs, il convient d'étiqueter ou de numéroter les prélèvements. Chaque boîte doit être accompagnée d'une fiche signalétique permettant de rassembler les renseignements utiles au laboratoire (RODIER *et al.*, 2009).

Dès leur prélèvement, les échantillons doivent être en général maintenus entre +1 et +4 °C dans une glacière et analysés dans les 24 heures (DELARRAS, 2000).

Le prélèvement subira obligatoirement un certain temps de transport et une éventuelle attente au laboratoire avant la mise en route analytique. Ces temps devront être réduits au minimum (RODIER *et al.*, 2009).

Les analyses bactériologiques de ce travail ont été réalisées au niveau des laboratoires de microbiologie du Département de Biologie à l'Université 8 Mai 1945 Guelma. Nous avons effectué trois prélèvements de trois échantillons pour chacun :

Le premier : en mois de Février le 26/02/2018 ;

Le deuxième : en mois de Mars le 12/03/2018 ;

Le troisième : en mois d'Avril le 22/04/2018.

Ces prélèvements effectués nous ont permis de faire une étude bactériologique.

3. METHODES ANALYTIQUES UTILISEES

La recherche et le dénombrement des bactéries dans un échantillon à analyser ou à contrôler met en œuvre tout d'abord la technique générale des dilutions. Elle permet de préparer les dilutions décimales de la suspension mère d'échantillon (DELARRAS, 2014).

Suspension, solution ou émulsion obtenue après qu'une quantité pesée (10 g) de boue à analyser (l'échantillon) ait été mélangée pendant 20 min, si nécessaire en utilisant un homogénéisateur et en observant des précautions appropriées, avec 100 ml de diluant (eau distillée stérile : EDS) en laissant les grosses particules se déposer, si elles existent (J.O.R.A, 2016).

Après nous effectuons une série de dilutions décimales par le transfert de 1 ml de la dilution au 1/10 dans 9 ml d'EDS jusqu'à 1/1000 (10^{-3}).

Nous évitons tout contact entre la pipette contenant l'inoculum et le diluant stérile. Bien homogénéiser chaque dilution pendant 5 à 10 secondes en utilisant de préférence un agitateur mécanique ; Nous changeons de pipettes entre chaque dilution (DELARRAS, 2014).

3.1. Les bactéries revivifiables

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier en aérobiose à des températures moyennes. La recherche et le dénombrement des germes revivifiables se réalise sur milieu Glucose Tryptone Extrait Agar (TGEA) à deux températures différentes afin de cibler à la fois les microorganismes à tendance psychrophiles soit à 22°C et ceux franchement mésophiles soit à 37°C (RODIER *et al.*, 2009).

3.1.1. Mode Opérateur

A partir des dilutions décimales 10^{-2} , 10^{-3} , porter aseptiquement 1 ml en double dans deux boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage. Compléter ensuite avec environ 19 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à $45^{\circ}\text{C} \pm 2$. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'inoculum est distribué dans la boîte et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder 15 minutes.

Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, sur une surface fraîche et horizontale. Laisser solidifier les boîtes sur pailleasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose. Cette double couche, a un rôle protecteur contre les contaminations externes diverses.

Les boîtes seront partagées en deux séries distinctes :

* La première série sera incubée à $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ pendant 68 heures ± 4

* La seconde série sera incubée à $36^{\circ}\text{C} \pm 2$, pendant 44 h ± 4 (LEBRES *et al.*, 2006) (**Fig 18**).

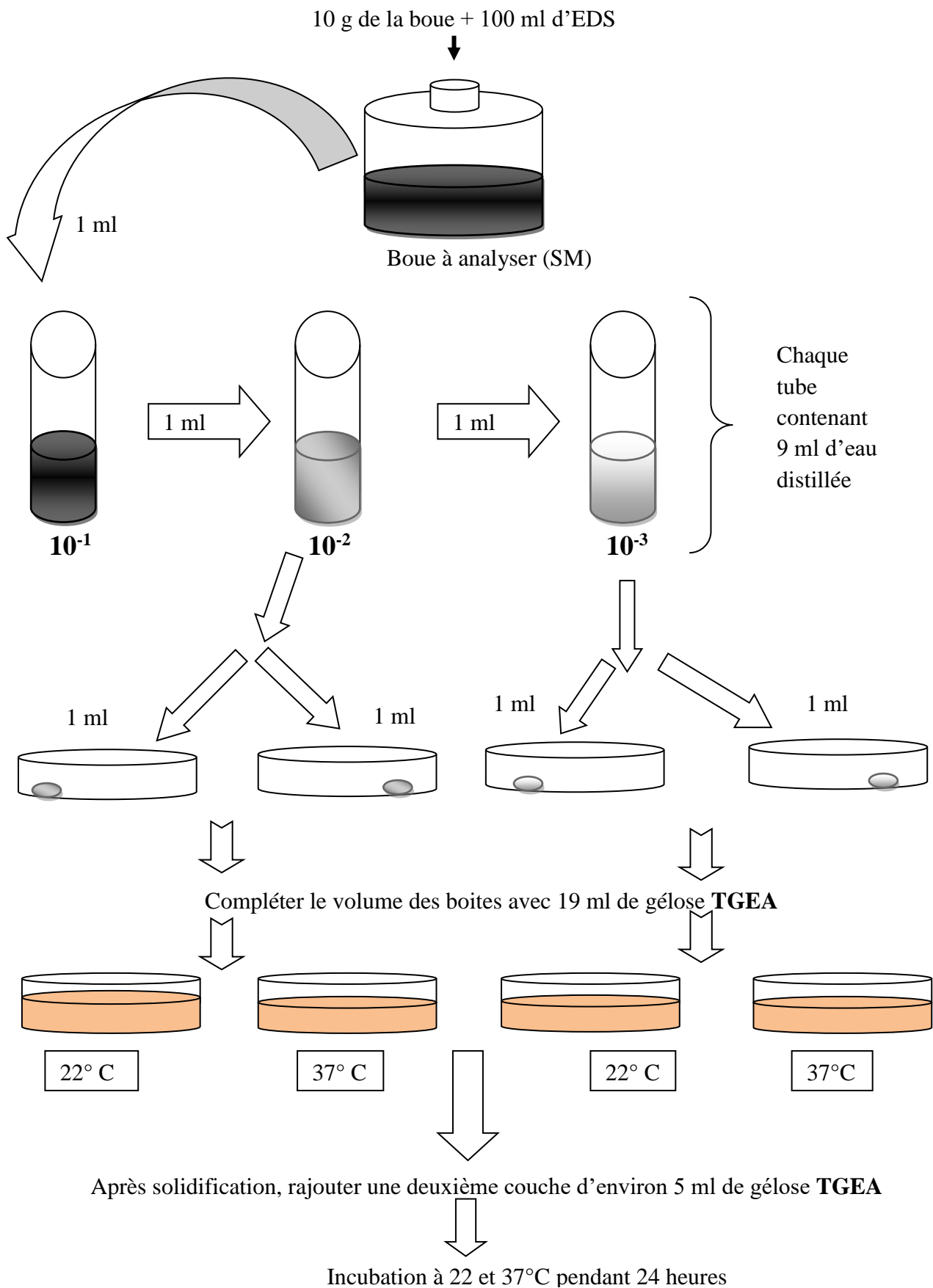


Figure 18 : Dénombrement des bactéries revivifiables.

3.1.2. Lecture des boîtes

Les colonies de microorganismes revivifiables apparaissent en masse sous formes lenticulaires et bien distinctes. Pour le dénombrement, il est recommandé d'utiliser un appareil de comptage lumineux muni d'une loupe et d'un compteur-enregistreur.

Ne tenir compte, pour exprimer les résultats, que des boîtes dans lesquelles se sont développées de 20 à 300 colonies (GASSAAJA, 2002). Calculer ensuite la valeur du nombre N, de microorganismes revivifiables à 22°C ± 2 à part et celle du nombre N de microorganismes revivifiables à 36°C ± 2 à part, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma c}{1.1 * d}$$

Où :

Σc : La somme des colonies dénombrées sur deux boîtes de dilutions successives retenues.

d : Le taux de dilution correspondant à la première dilution.

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule (LEBRES *et al.*, 2006).

3.2. Dénombrement des indicateurs de contamination fécale

La recherche et le dénombrement des bactéries indicatrices d'une contamination fécale comprennent deux méthodes classiques :

- 1- L'une, par filtration sur membrane pour un échantillon peu pollué ;
- 2- L'autre, par ensemencement en milieu liquide (NPP), pour un échantillon pollué (DELARRAS, 2000).

La recherche et le dénombrement ont été effectués selon la méthode de dénombrement en milieu liquide par détermination du nombre le plus probable (NPP). Les résultats de dénombrement sont déterminés à partir de la table de Mac Grady (Annexe 55) (RODIER *et al.*, 2009).

➤ Principe de la méthode de NPP

La technique du NPP fait appel à la méthode de fermentation en tubes multiples. Elle consiste à prendre au moins trois séries (3 séries) consécutives de trois à cinq tubes (3 à 5 tubes), correspondant à trois dilutions successives, dont l'échantillon ou la suspension mère ; de milieu non véritablement sélectif : c'est le test de présomption (croissance ou non), chaque premier tube d'une série est ensemencé avec 1 ml de la solution mère et la dilution contenue jusqu'au dernier

tube. Parfois la première série utilise un milieu de culture double concentration (DELARRAS, 2008).

Le dénombrement du nombre de bactéries par 100 ml ou par gramme est effectué à l'aide de la table du NPP à cinq tubes par dilution (DELARRAS, 2008), qui n'est qu'une estimation statistique du nombre de bactéries qui, plus probablement qu'un autre, donnerait les résultats observés; il ne s'agit pas du nombre réel de bactéries présentes.

3.2.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Vu la présence d'une petite agglomération et d'une importante activité rurale (élevage des bovins et ovins etc.) nous nous sommes orientés vers l'estimation de la contamination fécale issue de cette activité.

La colimétrie consiste à déceler et dénombrer les germes coliformes, elle se réalise en deux étapes :

- La recherche présomptive des coliformes totaux sur milieu Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésole (BCPL) simple concentration et munis d'une cloche de Durham.
- La recherche confirmative des coliformes fécaux sur milieu Schubert munis d'une cloche de Durham (in TABET, 2015).

Les principaux genres inclus dans ce groupe sont: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* et *Serratia* ainsi la presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas de risque directe pour la santé, à l'exception de certaines souches de *E. coli* et de rares bactéries pathogènes opportunistes.

➤ Mode opératoire

* Test de présomption

Nous prenons 5 tubes de BCPL, simple concentration, munis d'une cloche de Durham. Prélever 1 ml de la SM à analyser à l'aide d'une pipette Pasteur et la porter dans le premier tube de la série de dilution (10^{-1}). La pipette ne doit entrer en contact ni avec les parois des tubes, ni avec le liquide diluant. Avec une nouvelle pipette Pasteur, homogénéiser par aspiration et soufflage le contenu de ce tube (10^{-1}), prélever 1 ml et ensemercer le tube (10^{-2}), et ainsi de suite jusqu'au tube (10^{-5}). Changer à chaque fois de pipette. Examiner les tubes après une incubation de 24 h à 48 h à $37^{\circ}\text{C} \pm 2$:

- Observer d'abord le changement de couleur ou non dans les tubes ;
- Observer ensuite le trouble dans le milieu, dû à la croissance des bactéries présentes ;
- Observer enfin la production de gaz traduite par le soulèvement de la cloche de Durham introduit dans le milieu (au moins 1/10 de la cloche devra être vide) (TANDIA, 2007).

* **Test de confirmation**

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44°C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli*, et dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

Repiquer à partir de chaque tube montrant un résultat positif dans un milieu de confirmation ; puis incubés pendant 24 h à 48 h à 44°C.

Le milieu de Schubert contenant du mannitol. Le mannitol fermenté par *E. coli* (généralement dans 98 % des cas) donne du gaz dans les mêmes conditions que le lactose mais ne gêne en rien la production d'indole lors de la dégradation du tryptophane. Après incubation à 44°C pendant 24h, nous ajoutons quelques gouttes de réactif Kowacks dans les tubes montrant un trouble. Une réaction considérée positive correspond à la formation d'anneau rouge (MAZIERS *et al.*, 1980).

Après l'ensemencement des tubes, il faut vérifier qu'il n'y a pas de bulles d'air sous la cloche, pour éviter de fausser les résultats (**Fig. 19**).

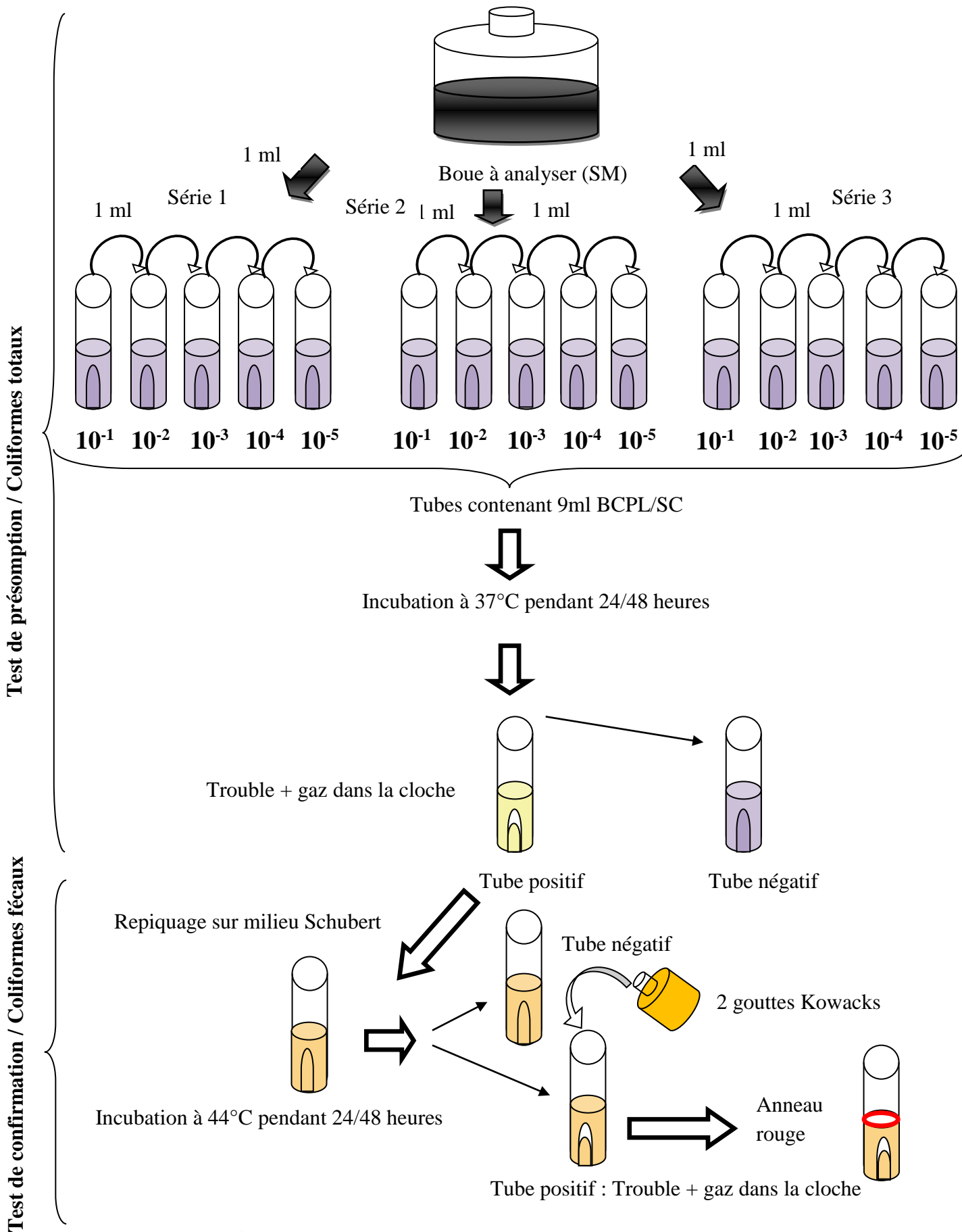


Figure 19 : Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

3.2.2. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux (*Enterococcus* ou streptocoques D ou encore entérocoques intestinaux) sont des commensaux de l'intestin. Ils sont considérés comme un bon indicateur spécifique de la contamination fécale.

Les streptocoques du groupe D ou Streptocoques fécaux sont recherchés en milieu liquide. La technique fait appel à deux tests à savoir :

- **Le test de présomption** : Réservé à la recherche des Streptocoques sur milieu de Rothe simple concentration;
- **Le test de confirmation** : Les tubes trouvés positifs sur milieu Rothe (présence d'un trouble) sont repiqués sur milieu Eva Litsky, Après 24h d'incubation à 37°C. La présence d'un trouble dans les tubes avec la formation d'un anneau violet au fond des tubes , nous confirme la présence des Streptocoques fécaux (in BOUFELDJA, 2017) (**Fig. 20**).

➤ Estimation du NPP

Nous supposons que pendant l'incubation, chaque tube ayant reçu un ou plusieurs organismes avec l'inoculum présentera une croissance qui provoquera ou non des modifications caractéristiques dans le milieu. Le NPP ne peut être estimé qu'à partir du nombre de tubes positifs. La précision est la force de cette méthode et dépend du nombre de tubesensemencés : elle croît comme une fonction de la racine carrée du nombre de tubes utilisés (TANDIA, 2007).

➤ Mode de calcul

Le nombre d'indicateurs recherchés (coliformes totaux et/ou de coliformes thermotolérants, streptocoques) par 1 g d'échantillon est donné par l'expression suivante :

$$N = \frac{NPP}{Tx}$$

Où :

N = Nombre d'indicateurs recherchés ;

NPP = Nombre le plus probable ;

Tx = Taux de dilution correspondant à la dilution la plus forte retenue (TANDIA, 2007).

3.2.3. Recherche et dénombrement des spores des bactéries anaérobies sulfite-réductrices (*Clostridium*)

C'est une recherche destinée pour les bactéries anaérobies strictes en particulier le genre *Clostridium* (REJSEK, 2002). En effet le genre *Clostridium* est un bacille à Gram (+) presque toujours mobile (PILET *et al.*, 1987). Cette espèce acquiert une forme spéciale appelée endospore ou spore ; très résistante dans l'environnement (REJSEK, 2002), une température de $36^{\circ}\text{C} \pm 2$ en 24 à 48 heures et en gélose profonde permet à cette forme de se développer en donnant des colonies de couleur blanche entourées d'une auréole noire, c'est le témoin de la réduction de sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire (LEBRES *et al.*, 2002).

➤ Mode opératoire

- Transférer environ 25 ml la SM à analyser (échantillon) dans un tube stérile ;
- Chauffer ce dernier à une température de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes, le but est de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes,
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question, sous l'eau de robinet,
- Le contenu de ce tube, sera réparti dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube ;
- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose viande foie, fondue puis refroidie à $47^{\circ}\text{C} \pm 1$, additionnée de 1 ml de la solution de sulfite de sodium et 4 gouttes de la solution d'alun de fer ;
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air ;
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à $36^{\circ}\text{C} \pm 2$, pendant 24 à 48 heures (RODIER *et al.*, 2009).

➤ Lecture et interprétation

- Considérer comme résultant d'une spore de bactérie anaérobie sulfite-réductrice toute colonie noire "entourée d'un halo noir".
- Il est indispensable de procéder à une lecture après 24 heures : en présence de nombreuses colonies, une diffusion des halos peut conduire à une coloration noire uniforme du tube et tout dénombrement devient impossible après 48 heures. Par contre, s'il y a une faible quantité de

colonies à la première lecture, et si les colonies sont petites, il peut y avoir un développement de nouvelles colonies dans les 24 heures suivantes (RODIER *et al.*, 2012).

- Dénombrer toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, ayant poussé en masse et rapporter le nombre total des colonies dans les quatre tubes à 20 ml de la boue à analyser (SM) (**Fig. 21**).

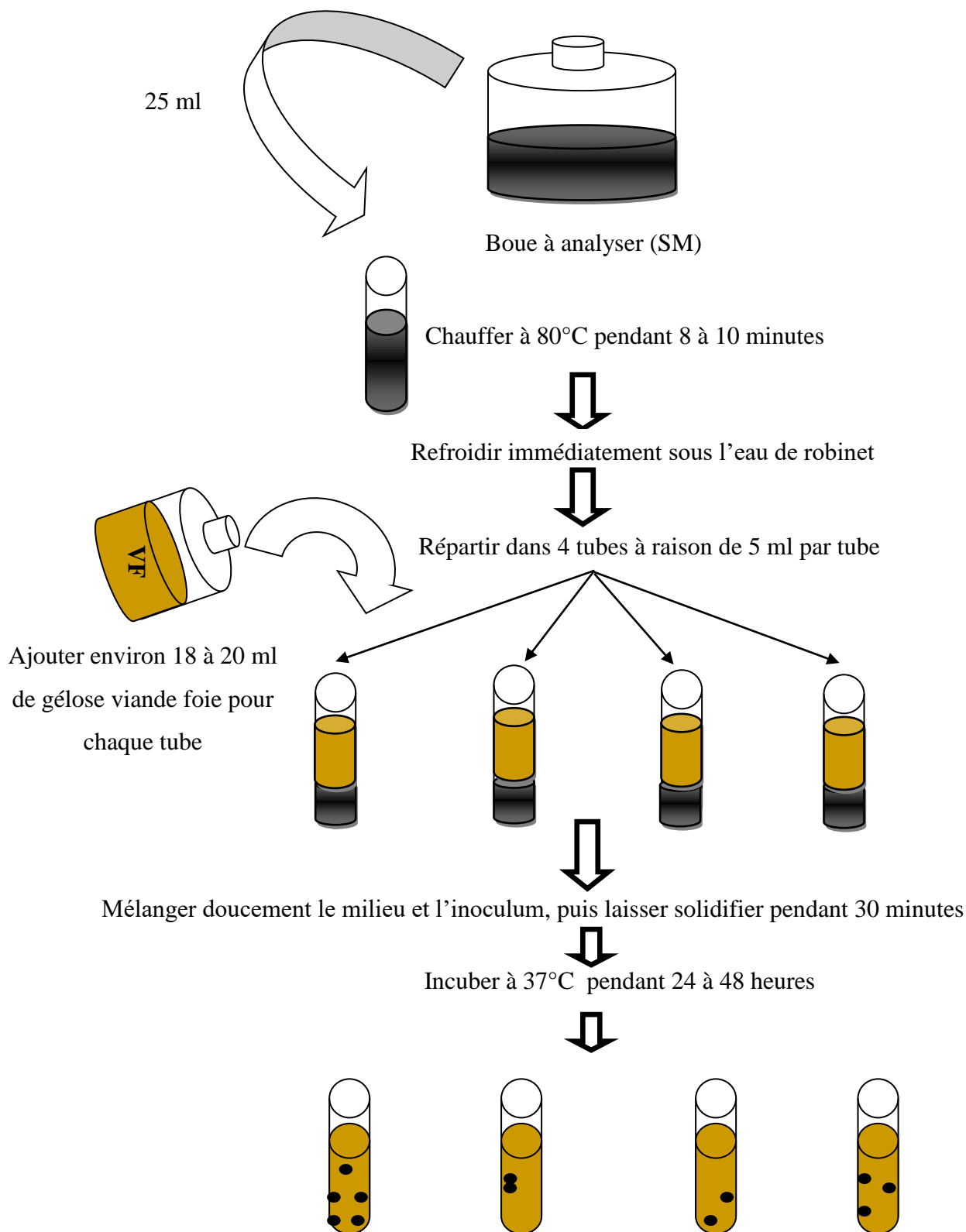


Figure 21 : Recherche et dénombrement des ASR

3.3. Recherche des germes pathogènes

Il existe une grande variété de bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes (opportunistes) pour l'homme. 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 (RODIER *et al.*, 2009).

Pour rechercher et identifier les bactéries, nous avons utilisé la technique d'ensemencement par râteau sur gélose coulée dans des boîtes de Pétri. Les milieux utilisés sont : GN, GNAB, Chapman, Hektoen, SS, Mac Conckey (in BOUCHAALA, 2010).

3.3.1. Recherche de *Salmonella*

La recherche de *Salmonella* à partir des prélèvements de la SM est souvent compliquée par leur faible concentration, il est nécessaire de pratiquer une méthode d'enrichissement. Au début, les bactéries qui nous intéressent sont diluées dans une population beaucoup plus nombreuse et très hétérogène que nous éliminons peu à peu au fil de transferts successifs à l'aide d'un milieu sélectif adéquat. Les cellules les mieux adaptées se multiplient plus vite que les autres et tendent à devenir majoritaires. Un simple étalement sur boîte gélosée et la collecte d'une colonie isolée permettent facilement d'obtenir une souche présumée pure (PELMONT, 1996).

Jour 1 : Le pré-enrichissement

Il est destiné à revivifier les cellules de façon à faciliter la culture dans les bouillants d'enrichissement il est réalisé à l'aide de plusieurs milieux, dans notre cas nous avons utilisé l'eau peptonée tamponnée (EPT), on peut l'utiliser en double concentration pour faciliter l'incubation. Nous prenons 25 g de l'échantillon que nous introduisons dans 225 ml de milieu EPT. L'incubation se fait à $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ pendant 24 heures (AZIZI, 2006).

Jour 2 : L'enrichissement

Dans notre cas nous avons utilisé le bouillon au sélénite de Leifson (SFB ; S/C). Ce bouillon est un milieu liquide destiné à l'enrichissement des salmonelles et éventuellement de *Shigella sonnei* contenues dans le prélèvement (DELARRAS, 2008). Nous avons prélevé 2 ml du milieu EPT (Solution pré-enrichie) que nous avons introduit dans le milieu SFB, et incubé à 37°C pendant 24 heures (GUIRAUD, 1998).

Jour 3 : Enrichissement secondaire et isolement

Le bouillon sélénite cystéine incubé la veille fera l'objet :

- D'une part, d'un enrichissement secondaire sur bouillon sélénite – cystéine
- D'autre part, d'un isolement sur gélose Hektoen et SS. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 h (LEBRES *et al.*, 2002) (**Fig. 22**).

Jour 4 : Lecture des boîtes et Identification

D'une part, le tube de sélénite fera l'objet d'un isolement, d'autre part, les boîtes de gélose Hektoen et SS subiront une lecture en tenant compte du fait que les *Salmonella* se présentent le plus souvent sous forme de colonies de couleur grise bleue à centre noir.

Généralement, l'isolement et la différenciation sur les milieux sélectifs ne permettent pas de façon certaine, l'identification immédiate des genres et *a fortiori* des espèces. Les indicateurs de culture et de couleur ne constituent qu'une présomption. Les colonies du type recherché doivent être toujours prélevées et ensemencées sur une galerie (traditionnelle ou rapide) ou soumis un test immunologique si l'on désire une confirmation ou une identification précise (LEBRES, 2004).

➤ Identification morphologique et biochimique

Cinq colonies caractéristiques et distinctes feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroule comme suit :

- * Etat frais (bacilles, mobilité) ;
- * Coloration de Gram (bacilles à Gram négatif) ;
- * Ensemencement d'un tube de TSI qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures (Lactose, Saccharose, Glucose, Gaz et H₂S) ;
- * Ensemencement d'un tube de gélose nutritive incliné qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures qui subira à l'agglutination sur lame ;
- * Ensemencement :
 - Soit d'une galerie biochimique classique (ONPG, Oxydase, LDC, ODC, ADH, Témoin, Urée, Indole, TDA, VP, RM ...)
 - Ou d'une galerie biochimique API 20E (LEBRES, 2004).

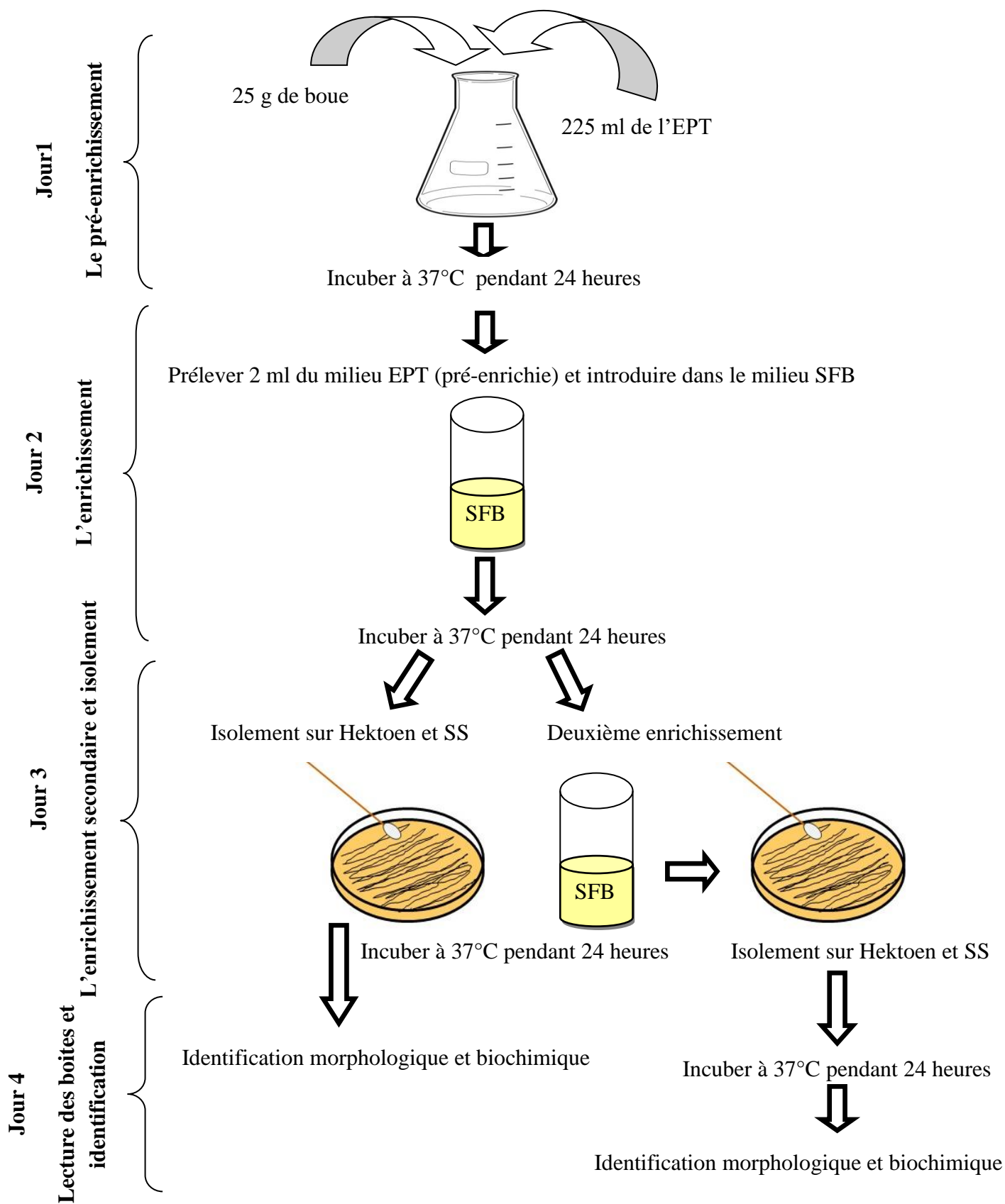


Figure 22 : Recherche des *Salmonella*

✓ **Identification antigénique**

Cette dernière repose sur l'agglutination sur lame de verre, à partir des mêmes colonies isolées la veille sur GN inclinée eu tubes, à l'aide des sérums de groupes d'abord OMA, OMB puis les autres après. La réglementation nationale algérienne exige que toute *Salmonella* isolée, soit confirmée au niveau du Laboratoire National de référence des *Salmonella* au niveau de l'institut Pasteur d'Algérie (LEBRES *et al.*, 2002).

3.3.2. Recherche de *Shigella*

Les Shigelles sont des Enterobacteriaceae, rencontrées exclusivement chez l'homme, en ne faisant partie d'aucune de sa flore commensale, elles sont toutes pathogènes et spécifiques du tube digestif, elles sont éliminées par les selles et dispersées dans les sols et les eaux où elles ne survivent que pour peu de temps (PECHERE *et al.*, 1982 ; CARBONELLE *et al.*, 1988).

➤ **Mode opératoire**

Sur la surface d'une gélose ordinaire Hektoen, SS ou Mac Conkey, nous étalons de 0,1 ml de l'échantillon (la SM) par la méthode des quatre quadrants, L'incubation se fait à 35 – 37 °C pendant 18 - 24 heures.

➤ **Lecture des boîtes et identification**

Les colonies de *Shigella* formées sont de taille moyenne (2 à 3 mm de diamètre), rondes, régulières et brillantes.

➤ **Caractère biochimique**

L'ensemble des caractères biochimiques se détermine par une galerie classique ou miniaturisée pour Enterobacteriaceae avec laquelle elles se différencient par un ensemble de caractères négatifs (**Tab 01**).

Tableau 01 : Caractères d'identification biochimiques de *Shigella* (SAYED, 2008)

Milieu	Test	Shigelle
TSI	Glucose	+
	Lactose	-
	Saccharose	-
	H ₂ S	-
	Gaz	-
Mannitol-mobilité	Mobilité	-
Urée-indol	Uréase	-
Citrate de Simmons	Citrate	-

3.3.3. Recherche de *Vibrio* cholérique

Les Vibrionaceae sont des bactéries bâtonnets incurvés en virgule ou droits, mobiles et aérophiles, Gram (-) et oxydase (+). Ils sont plus au moins basophiles (pH 8.5 à 9), cette propriété est utilisée d'ailleurs pour leur isolement (DELARRAS, 2010). Elles sont responsables d'une maladie pestilentielle à tropisme digestif, qui se développe souvent par pandémies (BERCHE *et al.*, 1988).

➤ Mode opératoire

Premier jour : Enrichissement primaire

L'enrichissement primaire s'effectue sur le milieu Eau Peptonée Alcaline (EPA). Un contenant au préalable 50 ml de milieu, auquel on ajoute aseptiquement 450 ml d'eau distillée stérile avec 45 g de la boue à analyser. Ce dernier sera par la suite incubé à 36°C ± 2 pendant 20 heures ± 4.

Deuxième jour : Enrichissement secondaire et isolement

Après incubation, le flacon constituant l'enrichissement primaire fera l'objet d'un isolement sur gélose GNAB. L'incubation se fait à $36^{\circ}\text{C} \pm 2$ pendant 20 heures ± 4 .

Troisième jour : Lecture des boîtes et identification

La boîte de gélose GNAB subira une lecture en tenant compte du fait que les vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses, transparentes et très caractéristiques (Fig. 23).

➤ Identification morphologique et biochimique

Les colonies sont très fines sur la gélose nutritive et jaunâtre sur la gélose hyperalcaline (PATRICK *et al.*, 1988). L'identification morphologique et biochimique se fait suite à :

- Observation à état frais (bacilles, mobilité) et après une coloration de Gram (bacilles Gram négatifs) ;
- Oxydase (+) ;
- Ensemencement sur un tube de TSI qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures ;
- Ensemencement sur un tube de gélose nutritive inclinée qui sera incubé à $36^{\circ}\text{C} \pm 2$ pendant 20 heures ± 4 , qui servira à l'agglutination sur lame ;
- Faire une mini-galerie biochimique basée sur l'étude des acides aminés afin de différencier les *Vibrio*, des *Pleisiomonas* et des *Aeromonas* selon Tableau 2.

Tableau 02 : Différences majeures entre les *Vibrio*, *Pleisiomonas* et *Aeromonas* (LABRES et MOUFFOK, 2008).

	LDC	ODC	ADH
<i>Vibrio</i>	+	+	-
<i>Aeromonas</i>	-	-	+
<i>Pleisiomonas</i>	+	+	+

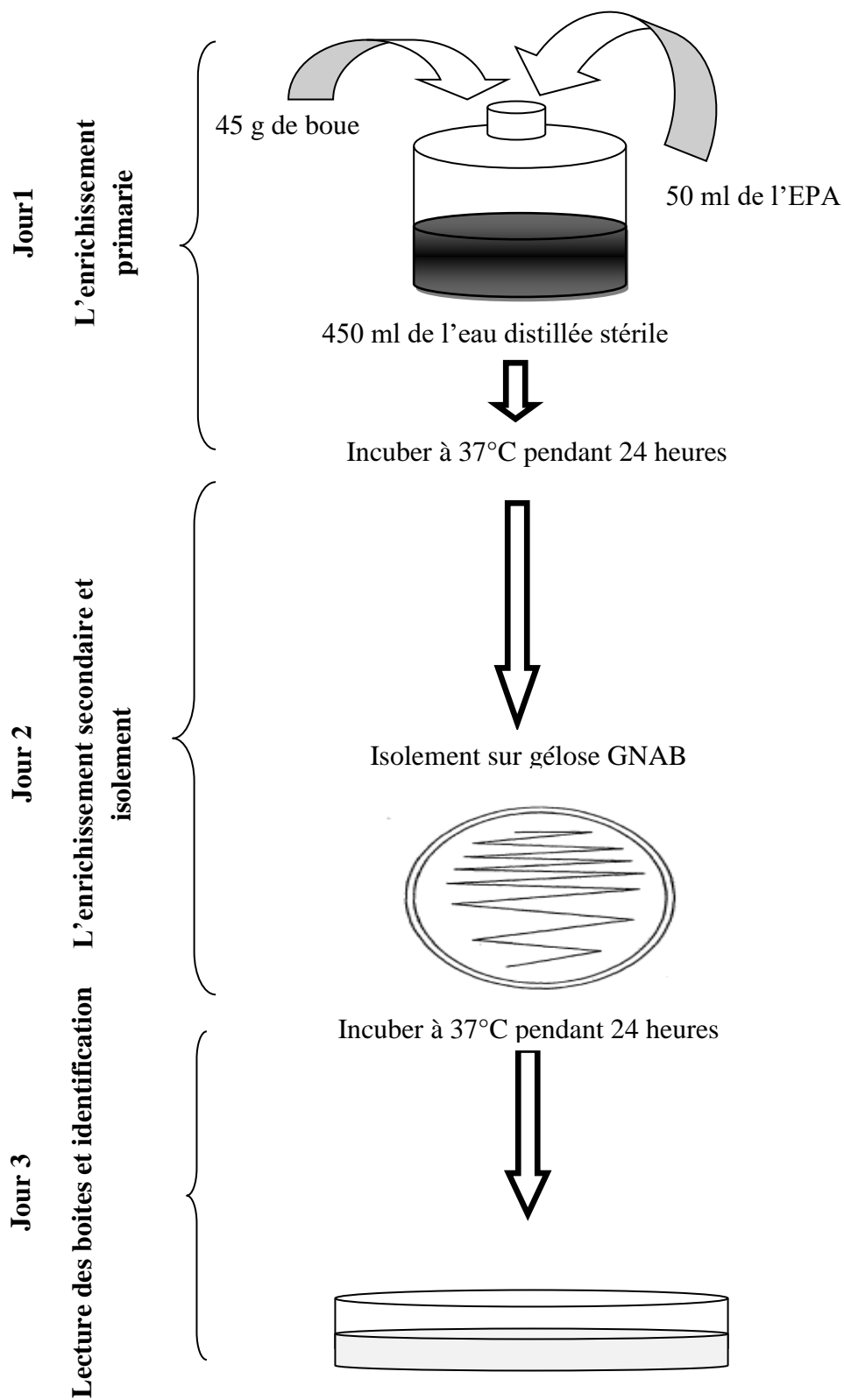


Figure 23 : Recherche des *Vibrio*

3.3.4. Recherche des *Staphylococcus*

Nous appelons les staphylocoques à coagulase positive toutes les bactéries qui se présentent sous forme de cocci à Gram positive, sphériques, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, possédant l'enzyme catalase et la coagulase (CARBONELLE *et al.*, 1988; LABRES et MOUFFOK, 2008). L'espèce type de ce genre est *Staphylococcus aureus*. Elle est pathogène et très redoutée.

Le milieu 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

Le dénombrement des staphylocoques s'effectue par étalement en surface. Un faible volume d'échantillon (SM) est réparti avec un étaleur stérile (pipette Pasteur repliée « en râteau » sur la surface d'une gélose sélective gélose Chapman au mannitol en boîte de Pétri (TABET, 2015). Cette dernière sera incubée couvercle vers le bas à $36^{\circ}\text{C} \pm 2$ pendant 44 heures ± 4 .

➤ Lecture et interprétation

Après une période d'incubation spécifiée, les Staphylocoques à coagulase positive, en particulier *Staphylococcus aureus*, apparaissent sous forme de petites colonies lisses légèrement bombées à contours réguliers et pigmentées en jaune (fermentation du mannitol) ou en blanc (LABRES et MOUFFOK, 2008 ; PECHERE *et al.*, 1982).

3.3.5. Recherche des *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie de la famille des Pseudomonadaceae en forme de bâtonnet, aérobie stricte, Gram négatif, cytochrome-oxydase positive, mobile par cils polaires produisant les pigments de fluorescéine et de pyocyanine (J.O.R.A, 2016).

Elle est hautement pathogène et résistante à plusieurs antibiotiques. C'est une bactérie lactose négative, autrement dit dépourvue d'enzymes dégradant le lactose (PILET, 1987; LABRES et MOUFFOK, 2008).

➤ **Culture**

Une reconnaissance préliminaire au laboratoire permet d'identifier ses colonies sur les géloses de type Mac Conkey (géloses contenant entre autres du lactose) grâce à leur aspect de perles beiges, alors que les colonies de bactéries lactoses positives sont roses. Pour une identification assurée on recherche la présence des enzymes de type oxydase, la production des deux pigments pyocyanine et fluorescéine, et la température de croissance optimale à 42°C confirme l'identification (LABRES et MOUFFOK, 2008).

➤ **Confirmation**

- Coloration de Gram et examen direct entre lame et lamelle (état frais) qui permet d'observer la mobilité des germes ;
- Recherche de la biocyanine, pigment bleu caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa* ;
- Ensemencement à partir des colonies développées sur l'eau peptonée ;
- Incubation à 37°C jusqu'à l'apparition de couleur verdâtre. Après l'ajout de 2 ml de chloroforme et agitation, la pyocyanine donne à ce dernier une teinte bleue (LABRES et MOUFFOK, 2008).

3.4. Identification morphologique et biochimique des bactéries recherchées

Des colonies caractéristiques et distinctes feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroule comme suit :

3.4.1. Identification morphologique

3.4.1.1. Observation macroscopique des colonies

C'est l'étude de l'aspect des colonies. Une colonie est l'amas, visible à l'œil nu, constitué par des milliards de descendants d'une seule cellule bactérienne vivant à la surface ou à l'intérieur d'un milieu de culture solide et dont la taille, la forme, la couleur, la consistance sont caractéristiques de chaque espèce. L'étude de l'aspect des colonies nécessite l'observation à l'œil nu, en lumière naturelle et artificielle, par éclairage direct et par transparence des colonies (GUEZLANE-TEBIBEL *et al.*, 2008).

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, a centre surélevé ;
- L'aspect de la surface : lisse, rugueux ;
- L'opacité : opaque, translucide, transparent ;
- La consistance : grasse, crémeuse, sèche, muqueuse ;
- Pigmentation (in ROUAIGUIA, 2010).

3.4.1.2. Observation à l'état frais

L'état frais permet d'observer des bactéries vivantes et apporte des renseignements sur la morphologie, le mode de groupement, la mobilité et la quantité approximative de bactéries (DELARRAS, 2014).

- A faire uniquement à partir d'un bouillon. Déposer la suspension bactérienne avec l'anse de platine totalement refroidie sur la zone centrale de la lame.
- Éviter les excès de liquide (risque de contamination et gêne l'observation) Recouvrir d'une lamelle le liquide. Éviter les bulles d'air. Recommencer au besoin.
- Observer rapidement en faible luminosité : poser la lame avec lamelle sur la platine porte objet abaissée par rapport aux objectifs.
- Mettre l'objectif x 40. Monter la platine porte objet jusqu'à 1 mm de l'objectif, puis observer la préparation. Faire le réglage en abaissant progressivement la platine porte objet tout en affinant la netteté avec la vis micrométrique (in AOUISSI, 2010).

3.4.1.3. Coloration de Gram

En raison de l'absence de couleur, nous devons souvent préparer les microorganismes avant de les observer au microscope optique. Une des méthodes de préparation consiste à les colorer.

La coloration est le procédé par lequel on utilise un colorant pour mettre en évidence certaines structures microbiennes. Cependant, toute coloration nécessite au préalable la fixation de l'échantillon sur une lame. La fixation entraîne à la fois la mort des microorganismes et sont adhérence à la lame. Elle préserve également certaines structures cellulaires dans leur état naturel et ne des déforme que très peu (MARTIN, 2010).

A partir des colonies suspectes isolées sur les milieux de cultures, on réalise une coloration Gram. La coloration de Gram ou coloration différentielle s'effectue de la manière suivante :

- Sur le frottis bactérien préparé, le premier colorant, le violet de Gentiane, va colorer en violet les bactéries, puis le Lugol (solution iodo-iodurée) libère de l'iode qui va fixer le colorant précédent.
- Un complexe iode-colorant se forme ; il sera solubilisé par l'alcool à 95°C lors de la phase de décoloration, uniquement pour les bactéries à Gram(-).
- Le deuxième colorant, dit de contraste, la fuschine, va colorer en rose les bactéries à Gram (-) ; les bactéries à Gram (+), non décolorées par l'alcool, ont conservé leur couleur violette (DELARRAS, 2014) (**Fig 24**).

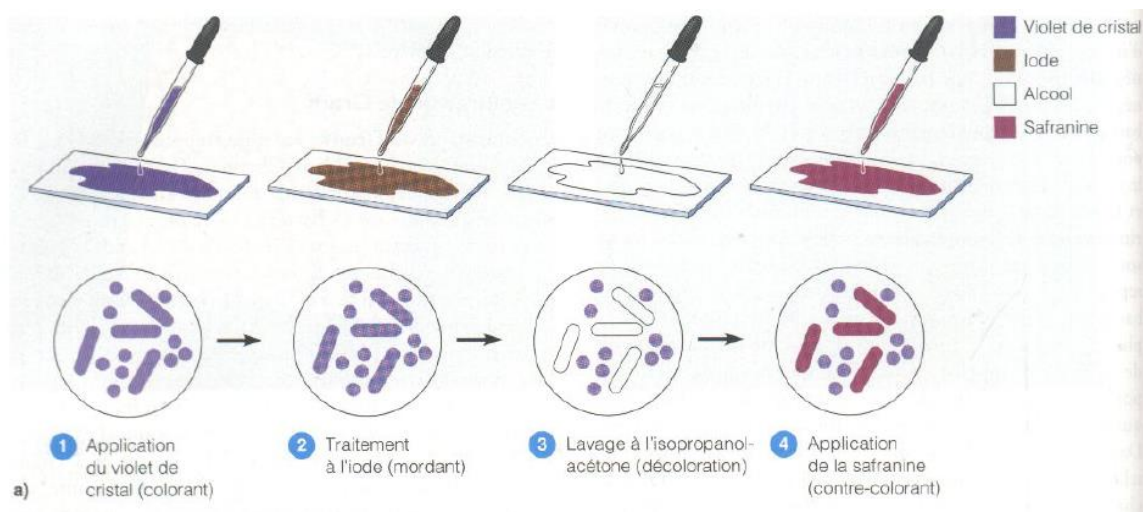


Figure 24 : Coloration de Gram (MARTIN, 2010).

- Après ce traitement, les bactéries Gram positif sont bien colorées en violet, et les bactéries Gram négatif sont colorées en rose (CARBONELLE, 1988 ; PRESCOTT *et al.*, 2003).
- La division du monde bactérien en deux groupes (Gram + et Gram -) est principalement liée à une différence de structure chimique des parois cellulaires des bactéries.

3.4.2. Identification biochimique

3.4.2.1. Galerie classique

Les tests biochimiques conventionnels du métabolisme respiratoire, glucidique ou protéique, pour la différenciation de bactéries (entre familles, entre genres) ou pour leur identification, sont utilisés en pratique courante au laboratoire (DELARRAS, 2014).

Tableau 03 : Les tests biochimiques.

Métabolisme	Tests biochimiques
Respiratoire	Test catalase
	Test oxydase
	Test des nitrate-réductases
Glucidique	Test ONPG-hydrolase
Protéique	Test indole
	Test H ₂ S
	Test coagulase libre

- **Test catalase**

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage (DELARRAS, 2014).

La recherche de cette enzyme est utile pour différencier les bactéries appartenant aux familles des Micrococaceae, Dermacoccaceae, Enterococcaceae, streptococcaceae.

Deux méthodes classiques permettent de rechercher cette enzyme :

- ❖ **Première méthode**

- Prendre un tube 1 ml d'eau distillée stérile ;
- Emulsionner une quantité suffisante d'une culture bactérienne de 24 heures prélevée sur milieu gélose, afin d'obtenir une suspension épaisse (turbidité importante) ;
- Ajouter 2 à 3 gouttes d'eau oxygénée sans agiter. Attendre 1 à 2 min avant d'observer.
- Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase (+) (**Fig. 25**).

❖ **Seconde méthode**

- Prendre une lame porte objet propre. Déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée et émulsionner un peu de colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose.
- Effectuer le test sur les souches à caractériser et observer.
- Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase : test catalase + (DELARRAS, 2008) (**Fig 25**).

▪ **Test oxydase**

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes. Le principe de ce test est fondé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif pour former un composé coloré en violet, l'indophénol (DELARRAS, 2014).

La technique consiste à utiliser des disques (OX) commercialisés par l'institut Pasteur. Ces disques sont imprimés de l'oxalate diméthyle paraphénylène diamine, ce composé oxydé par le système cytochrome C des bactéries dites positives 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 et étalée sur ce disque. La présence d'oxydase se manifeste par l'apparition d'une coloration violette (MECHAI, 2009) (**Fig. 25**).

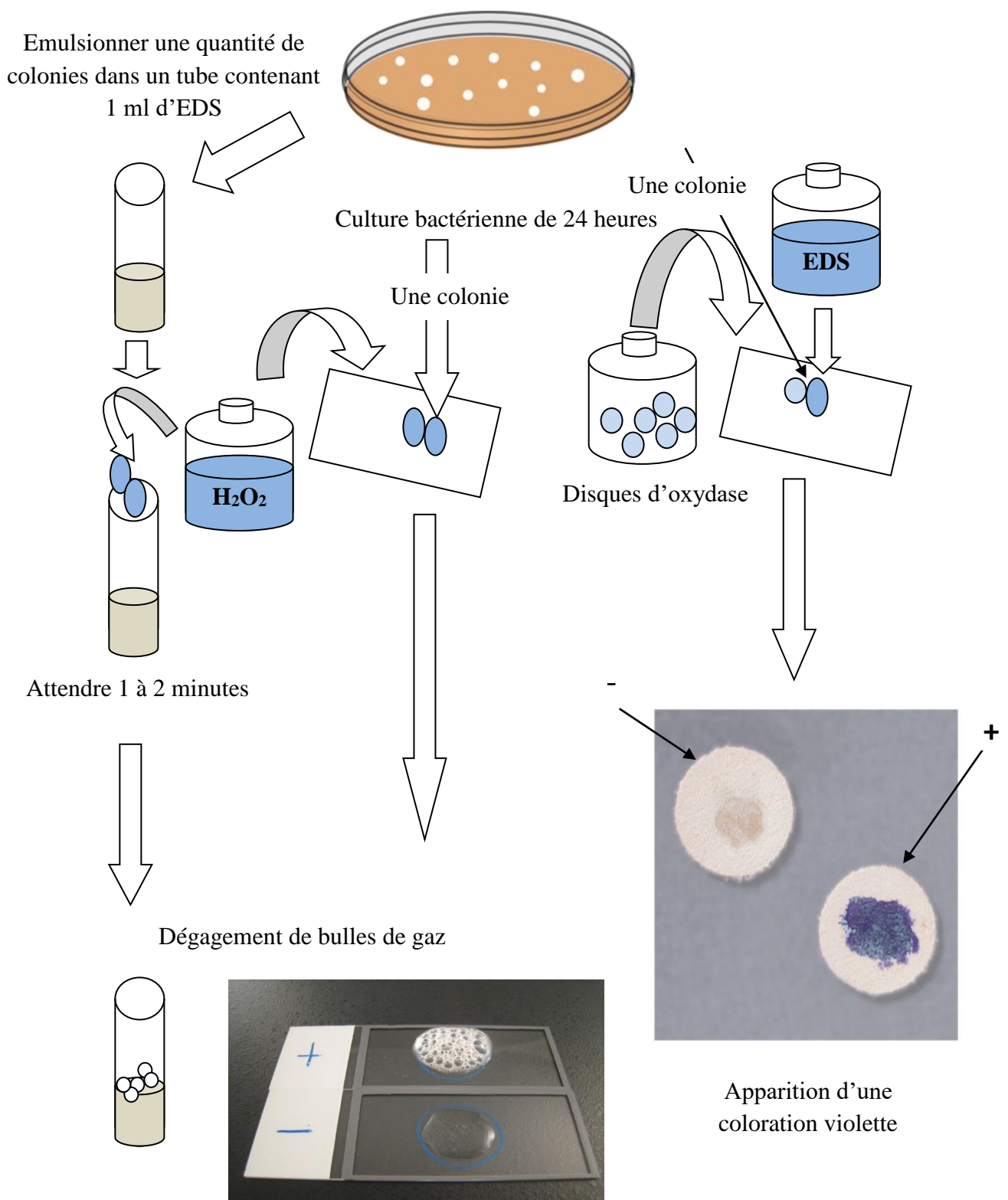


Figure 25 : Tests biochimiques complémentaires : Catalase, Oxydase.

▪ **Recherche des nitrates réductases (NR)**

Certaines bactéries (entérobactéries, *Pseudomonas*...) ont la capacité de réduire les nitrates. Elles peuvent soit les assimiler et les respirer suivant deux types de réactions :

1. Une réaction assimilatrice sous la dépendance d'une nitratase de type B (NRB) ou nitrate réductase assimilatrice ;
2. Une respiration nitrate s'effectuant en anaérobiose sous la dépendance d'une nitrate-réductase de type A (NRA) ou nitrate réductase assimilatrice (DELARRAS, 2008).

Dans la pratique courante, le type de nitrate-réductase n'est pas déterminé ; on met en évidence la réduction des nitrates en cherchant les nitrites formés (DELARRAS, 2008).

➤ **Technique**

- Cultiver la bactérie dans un bouillon nitrate ;
- Incuber à 37°C jusqu'à l'obtention d'une culture abondante ;
- Ajouter une ou deux gouttes d'acide parasulfanilique en milieu acétique (réactif NIT1) puis une à deux gouttes d'alpha-naphtylamine en milieu acétique (réactif NIT1) (in BOUCHAALA, 2010) (**Fig 26**).

➤ **Lecture**

- Apparition en quelques secondes d'une coloration rose ou rouge : réaction positive, la bactérie réduit les nitrates en nitrites.
- Absence de coloration : ajouter de la poudre de zinc :
 - Apparition en cinq minutes d'une coloration rose ou rouge : réaction négative ;
 - Absence de coloration : réaction positive, la bactérie réduit les nitrites jusqu'au stade azote gazeux (in BOUCHAALA, 2010) (**Fig. 26**).

Tableau 04 : Lecture et interprétation du test nitrate-réductase (DELARRAS, 2014).

Coloration de la pente du milieu	Test nitrate-réductase (NR)
Rouge (après une minute environ)	NR+ Entérobactéries <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Vibrionaceae</i> (sauf exceptions)...
Si incolore, rajouter un peu de zinc dans le tube de culture, laisser sédimenter sans agiter ; observer après 1 à 2 min.	NR- <i>Pseudomonas putida, Neisseria</i>
	NR+ <i>P. aeruginosa</i>

▪ Test ONPG-hydrolase

Le test ONPG ou ONPG-hydrolase est complémentaire, voir indispensable, à l'étude de la dégradation du lactose chez les entérobactéries. Pour que les entérobactéries acidifient le lactose, il faut qu'elles possèdent deux enzymes :

- Une β -galactoside-perméase membranaire, nécessaire à la pénétration du lactose dans la cellule ;
- Une β -galactosidase permettant de scinder la molécule de lactose en galactose et glucose.

L'orthonitrophényl- β -D-galactopyranoside (ONPG) est un analogue structural du lactose. Ce substrat synthétique incolore peut être scindé en galactose et en orthonitrophénol (composé soluble jaune) en présence d'une des enzymes appelées ONPG-hydrolase (DELARRAS, 2014). En effet, ces enzymes correspondent :

- Soit à la β -galactosidase, ONPG hydrolase qui catalyse la réaction d'hydrolyse de l'ONPG.
- Soit à d'autres enzymes bactériennes, désignées ONPG-hydrolases qui hydrolysent également l'ONPG, mais pas le lactose ; elles sont différentes de la β -galactosidase.

- Test lactose et test ONPG-hydrolase

Les bactéries lactose + possèdent la β -galactosidase (β -gal+) et sont toujours ONPG+.

Les bactéries lactose- peuvent être :

1. ONPG- : Elles ne possèdent pas d'ONPG-hydrolase ;
2. ONPG+ : Elles possèdent soit une β -galactosidase, mais pas de β -galactosidase perméase et elles ne peuvent donc pas dégrader le lactose, soit une ONPG-hydrolase autre qu'une β -galactosidase (DELARRAS, 2008).

La technique consiste à prélever une anse complète d'une culture bactérienne et faire une suspension dense ; la réaction est d'autant plus rapide qu'il y'a plus de bactéries, donc plus d'enzymes (DELARRAS, 2014).

Ajouter un disque ONPG (papier filtre stérile imprégné de tampon et d'ONPG) commercialisé prêt à l'emploi. Incuber au bain-marie à 37 °C pendant un temps variant entre 15 à 30 minutes et jusqu'à 24 h au maximum, en raison de réactions tardives positives avec certaines bactéries.

La lecture et l'interprétation du test ONPG sont présentées dans le tableau ci dessous (DELARRAS, 2008) (**Fig 26**).

Tableau 05 : Résultat du test ONPG chez quelques entérobactéries (DELARRAS, 2014).

Couleur dans le tube	Test ONPG	Entérobactéries
Coloration jaune	ONPG+	Souches lactose+, β -gal+ : <i>E. coli, Klebsiella, Citrobacter</i>
		Souches lactose-, β -gal+ : certaines espèces de <i>Serratia, Enterobacter, Yersinia</i> ...
Pas de coloration	ONPG-	Souches lactose-, β -gal- : <i>Proteus, Prividencia, Salmonella</i> sauf <i>S. enterice</i> subsp, <i>arizonae</i> et <i>S. enterica</i> subsp. <i>Diarizonae</i> ONPG+, lactose+ (pas d'acquisition d'un plasmide)...

▪ Milieu Urée-Indole

Ce milieu a pour but la recherche, la détermination de la présence d'une uréase chez la bactérie, et de savoir si elle peut produire de l'indole à partir du tryptophane à l'aide de tryptophanase (LEBRES, 2004).

En effet, ce milieu donne trois caractères :

- * Urée : enzyme uréase ;
- * TDA : Tryptophane Désaminase ;
- * Indole : Tryptophanase.

Certaines bactéries désaminent puis hydrolysent le tryptophane pour donner une molécule d'indole. L'indole réagit avec la fonction aldéhyde du paradiméthylamino-benzaldéhyde pour donner un composé coloré en rouge.

Alors que, l'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée et conduit à la formation d'ammoniac et de dioxyde de carbone. En solution, le produit final de la réaction est le carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu.

Ainsi que certaines bactéries possédant (TDA) enzyme conduise par désamination oxydative du tryptophane, à la formation d'acide indole pyruvique.

➤ **Technique**

↪ **Hydrolyse de l'urée (Uréase)**

- Ensemencer un milieu Urée-Indole contenant de l'urée, du tryptophane et du rouge de phénol.
- Recouvrir la surface du milieu d'huile de paraffine pour éviter la libération d'ammoniac.
- Incuber 18 à 24 heures à 37 °C (**Fig. 26**).

➤ **Lecture**

- ❖ Uréase positive : le milieu présente une coloration rouge violacée ou orange foncée.
- ❖ Uréase négative : le milieu a une teinte jaune (**Fig. 26**).

↪ **La recherche de l'indole**

- Ensemencer le milieu Urée-Indole, et incuber 24 heures à 37 °C.
- Ajouter 2 gouttes du réactif Kowacks (in BOUCHAALA, 2010) (**Fig. 26**).

➤ **Lecture**

- ❖ Réaction positive : Apparition instantanée d'un anneau rouge.
- ❖ Réaction négative : anneau brunâtre (teinte originale du réactif) (**Fig. 26**).

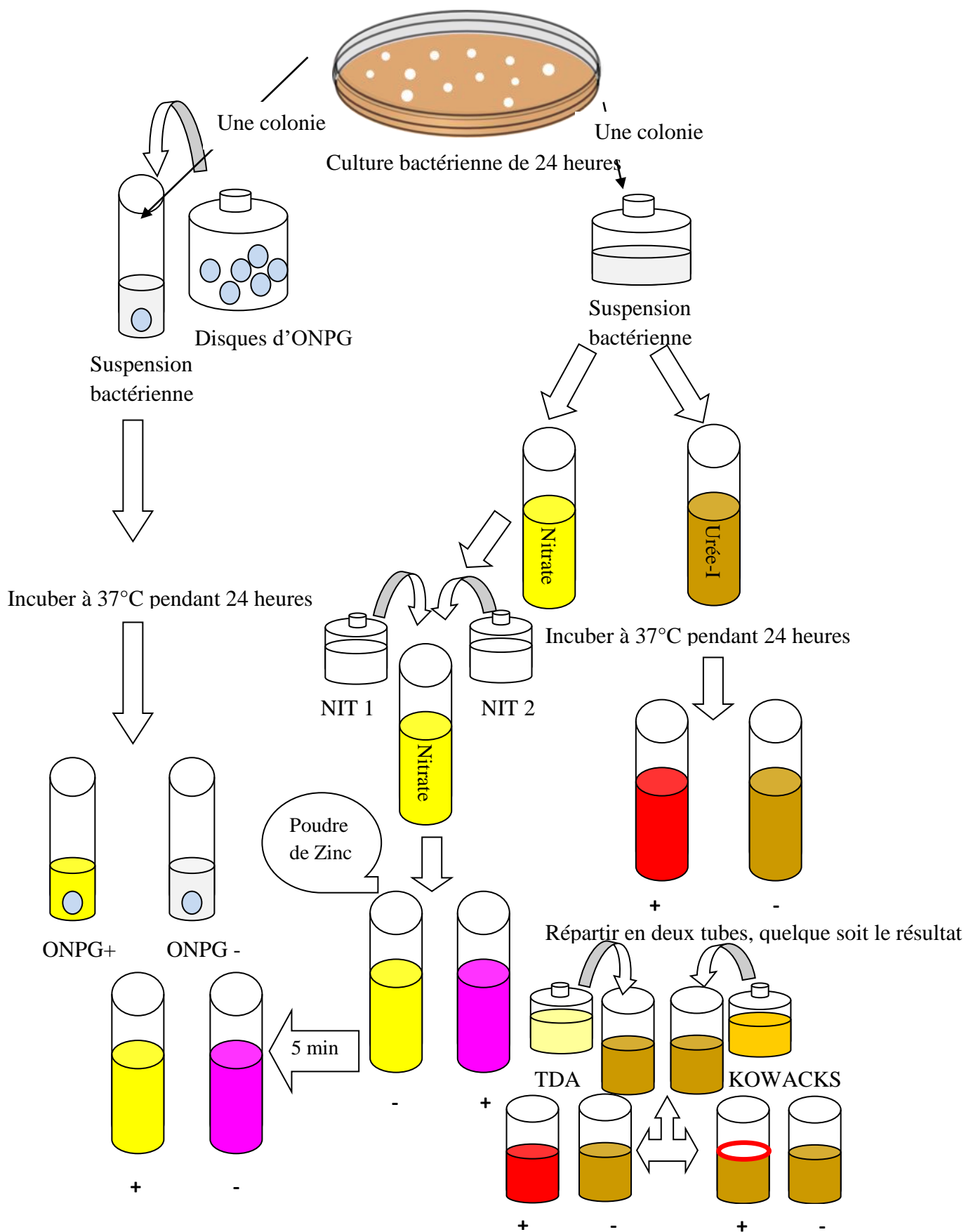


Figure 26 : Tests biochimiques complémentaires : nitrates réductases (NR), test ONPG-hydrolase, Urée-Indole.

▪ **Milieu TSI (Triple Sugar Iron Agar)**

Le but de ce test est de mettre en évidence cinq caractères :

1. Fermentation du Glucose ;
2. Fermentation du Lactose ;
3. Fermentation du Saccharose ;
4. Production de Gaz ;
5. Production d'H₂S (LEBRES, 2004).

Le milieu de TSI est un milieu gélosé contenant du glucose, du lactose, du saccharose, de la peptone, un sel de fer et un indicateur de pH, le rouge de phénol. Ce milieu est réparti en tubes à essai sous forme semi-inclinée avec un haut culot et une petite tranche. Il est ensemencé par piqûre profonde du culot au fil droit et par ensemencement en stries de la tranche.

Après une période de 24 h à 37°C le milieu est examiné.

Dans le culot, l'anaérobiose relative favorise l'utilisation du glucose qui entraîne une acidification et le virage au jaune de l'indicateur. Sur la tranche l'aérobiose favorise l'utilisation du lactose qui entraîne le virage au jaune de l'indicateur. L'acidification due au glucose, qui est en faible quantité, est neutralisée rapidement à ce niveau par l'alcalinisation provenant de la dégradation des peptones. L'acidification de la tranche indique donc bien l'utilisation du lactose. L'apparition des bulles dans le culot traduit la production du gaz, un noircissement dû à la formation du sulfure de fer traduit celle de H₂S. Ce milieu sert aussi à la pratique des réactions à la β-galactosidase et la LDC (lysine décarboxylase). Ce milieu permet de différencier les *Salmonella* des *Shigella* [lactose(-), saccharose (-)] de la plupart des autres Entérobactéries (GUIRAUD, 1998) (Fig. 27).

▪ **Milieu Mannitol-Mobilité**

Sur ce milieu on peut étudier :

- ✓ La mobilité des bactéries ;
- ✓ Et la fermentation du mannitol.

Le but de ce test est de déterminer si les bactéries sont mobiles à une température donnée.

➤ **Technique**

Ensemencer les tubes par piqûre centrale dans la gélose en culot avec les souches à tester. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture**

La mobilité se caractérise par une migration des bactéries de la piqûre centrale vers le reste du milieu entraînant ainsi une turbidité.

La fermentation du mannitol se traduit par le virage de la couleur rouge du milieu au jaune (in BOUCHAALA, 2010) (**Fig. 27**).

▪ **Milieu au Citrate de Simmons**

Certaines bactéries sont capables d'assimiler le citrate, autrement dit capables d'utiliser le citrate comme unique source de carbone et d'énergie. Ces bactéries possèdent une citrate perméase et les enzymes du catabolisme du citrate. De telles bactéries sont capables de croître sur un milieu synthétique, le milieu de citrate de Simmons, dont l'unique source de carbone est le citrate de sodium. Ce milieu contient également des sels d'ammonium comme unique source d'azote et du bleu de bromothymol comme indicateur de pH. Initialement, le pH du milieu est de 7 et à un tel pH, le bleu de bromothymol a une teinte verte. La croissance sur le milieu au citrate de Simmons s'accompagne généralement d'une alcalinisation provoquant le virage au bleu (bleu outre-mer) du bleu de bromothymol.

➤ **Technique**

Ensemencer en surface le milieu au citrate de Simmons à partir d'une culture prélevée sur un milieu gélosé. Incuber à 37 °C pendant 24 heures (**Fig. 27**).

➤ **Lecture**

La majorité des auteurs considère qu'une bactérie est citrate positive lorsqu'elle utilise le citrate en provoquant une alcalinisation du milieu.

Présence d'une coloration bleue (même localisée uniquement en surface) : réaction positive.

La présence d'une coloration verte dans tout le milieu est considérée comme réaction négative (même en présence d'une culture) (in BOUCHAALA, 2010).

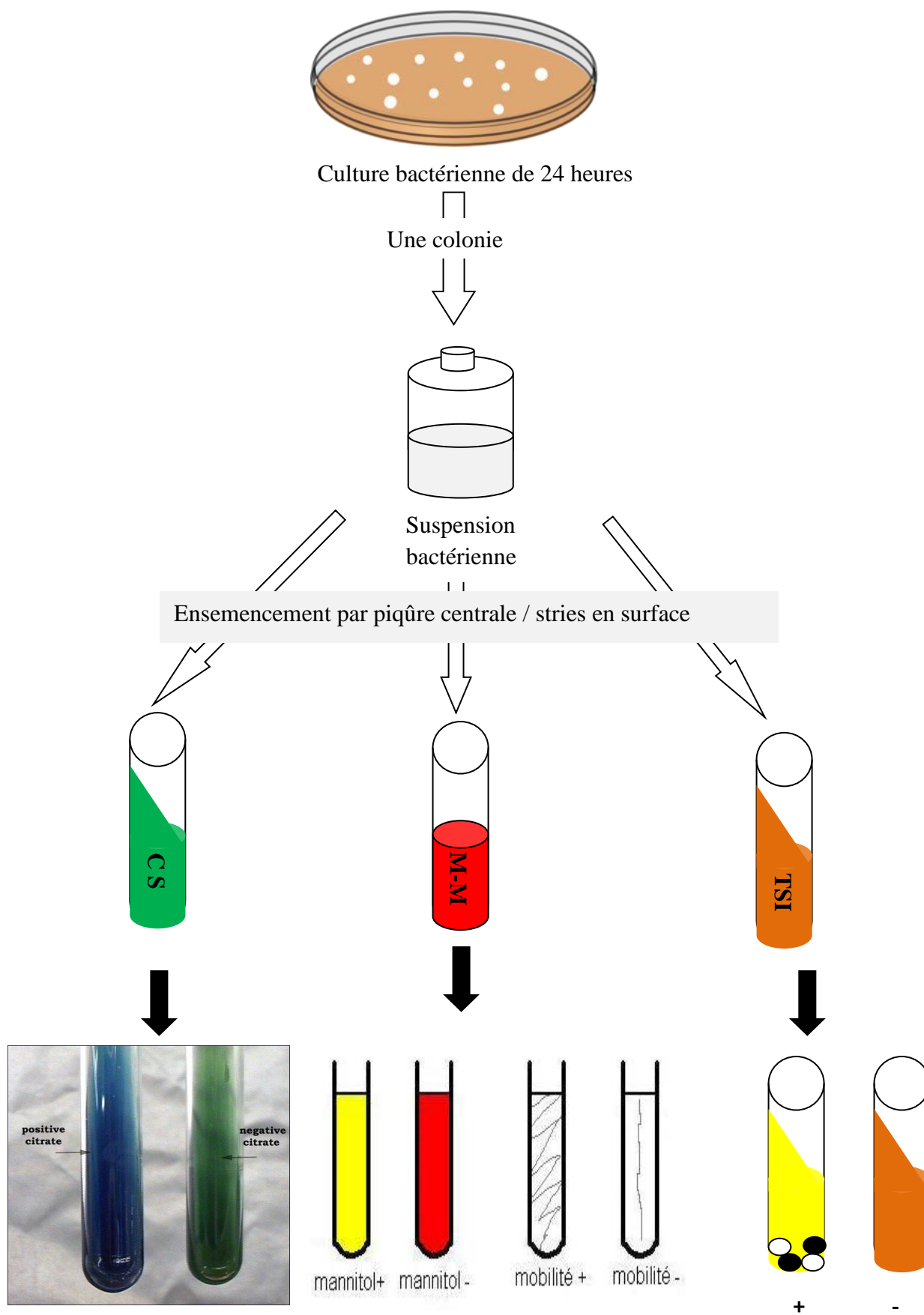


Figure 27 : Tests biochimiques complémentaires : TSI, Mannitol – Mobilité, Citrate de Simons.

3.4.2.2. La galerie API 20

La galerie API20 est un système pour l'identification des bactéries, utilisant 20 tests biochimiques miniaturisés, prêt à l'emploi et standardisé. En effet, cette galerie comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Au-dessous de chaque tube, un sigle indique la nature du test. Les tubes sont ensemencés avec une suspension bactérienne effectuée en eau physiologique (milieu "Suspension Medium"). Les réactions produites au cours de la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Un fond et un couvercle complètent la galerie et permettent de constituer une boîte d'incubation.

➤ Préparation d'une galerie API

- Mettre de l'eau distillée sur le fond de la boîte (partie alvéolée), toutes les alvéoles doivent être remplies, éliminer l'excès d'eau en renversant la boîte au dessus de l'évier ;
- Placer la galerie sur le fond de la boîte elle doit être manipulée avec la pince.
- Inscrire nom, référence souche, date et température d'incubation sur la languette latérale de la boîte ;
- Pour la préparation de l'inoculum, ouvrir une ampoule de Suspension Medium (ou un tube d'eau distillée stérile) ;
- Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé ;
- Réaliser une suspension bactérienne faible.
- Inoculation de la galerie : remplir la galerie de suspension en évitant les billes d'air.
- Après incubation, lire les réactions en appliquant le tableau de lecture.

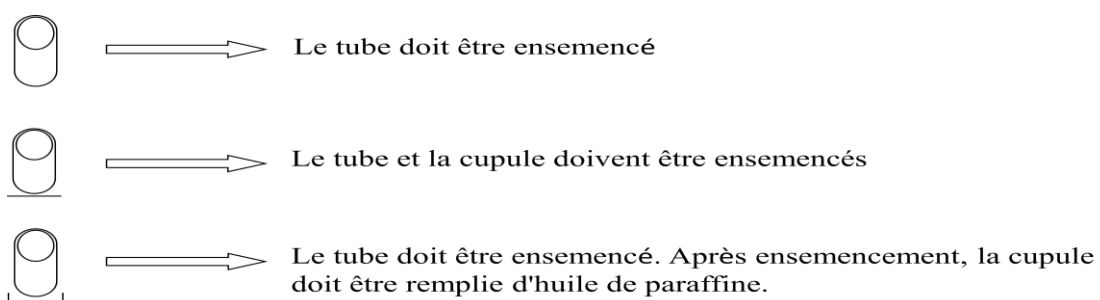


Figure 28 : Méthode de remplissage de l'API

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupe de trois (chaque groupe de trois tests est séparé du groupe voisin par un trait vertical). Chaque test donnant une réaction négative prend la valeur 0.

Lorsqu'un test est positif, il prend les valeurs 1, 2 ou 4 selon sa position au sein d'un groupe de trois : si le premier test d'un groupe de trois est positif il est noté 1, si le deuxième test est positif il est noté 2 et si le dernier test d'un groupe de trois est positif il est noté 4.

Pour chaque groupe de trois, additionner les chiffres correspondants. On obtient un nombre à sept chiffres qui constitue le profil numérique de la souche étudiée.

La recherche du profil numérique dans le "Catalogue analytique" commercialisé par le fabricant permet d'identifier la bactérie (in BOUCHAALA, 2010).

- **API 20 E**

La galerie API20 E est un système pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles Gram négatif, utilisant 20 tests biochimiques miniaturisés, prêt à l'emploi et standardisé (DELARRAS, 2008) (Annexe 6).

- **API 20 NE**

API 20 NE est un système standardisé, permettant d'identifier des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux.

Composition de la galerie

La galerie API 20 NE est composée de 20 microtubes (surmontés de cupules) contenant des substrats déshydratés, qui permettent de réaliser 20 tests biochimiques dont 8 tests conventionnels et 12 tests d'assimilation. Le test oxydase constitue le 21^e test d'identification à effectuer hors galerie (DELARRAS, 2008) (Annexe 7).

- **API 20 Staph**

La galerie API Staph est composée de 20 microtubes (surmontés de cupules) contenant des substrats déshydratés, qui permettent de réaliser 19 tests biochimiques appartenant au métabolisme respiratoire, glucidique et protéique des bactéries. La galerie est inoculée avec API Staph Medium (DELARRAS, 2008) (Annexe 8).

Chapitre 4 :

Résultats et

discussion

1. RESULTAT DE LA CARACTERISATION BACTERIOLOGIQUE

1.1. Dénombrement des germes

Dans cette étude nous avons effectué une caractérisation bactériologique basée sur deux parties : une quantitative et l'autre qualitative, qui permet le dénombrement et l'identification des germes présents dans les boues résiduaires issues de la STEP Guelma :

- Les germes revivifiables;
- Les coliformes totaux ;
- Les coliformes fécaux ;
- Les streptocoques fécaux ;
- Les ASR ;
- Quelques bactéries pathogènes.

Les résultats sont classés selon le temps du prélèvement effectué et sont résumés dans les tableaux si dessous, suivis par des diagrammes qui les expliquent.

Tableau 06 : Résultat de dénombrement des bactéries indicatrices de contamination dans les boues résiduaires pour le premier prélèvement au mois de février (le 26/02/2018) :

Germes		Prélèvement 1		
		BL	BM	BS
Germes revivifiables (UFC/100 ml)	22 °C	13000	15000	9000
	37 °C	16000	17000	10000
Coliformes totaux (UFC/100 ml)		4500	15000	0
Coliformes fécaux (UFC/100 ml)		1100	1100	0
Streptocoques fécaux (UFC/100 ml)		6000	7000	0
ASR (UFC/100 ml)		Forte présence (indénombrable)	Forte présence (indénombrable)	Forte présence (indénombrable)

Tableau 07 : Résultat de dénombrement des bactéries indicatrices de contamination dans les boues résiduaires pour le deuxième prélèvement au moins de mars (le 13-03-2018):

Germes		Prélèvement 2		
		BL	BM	BS
Germes revivifiables (UFC/100 ml)	22 °C	16000	18000	10000
	37 °C	20000	Ind	13000
Coliformes totaux (UFC/100 ml)		20000	30000	0
Coliformes fécaux (UFC/100 ml)		9000	10000	0
Streptocoques fécaux (UFC/100 ml)		9500	9500	9
ASR (UFC/100 ml)		Forte présence (indénombrable)	Forte présence (indénombrable)	Forte présence (indénombrable)

Tableau 08 : Résultat de dénombrement des bactéries indicatrices de contamination dans les boues résiduaires pour le troisième prélèvement au mois d'avril (le 22-04-2018):

Germes		Prélèvement 3		
		BL	BM	BS
Germes revivifiables (UFC/100 ml)	22 °C	20200	27000	15000
	37 °C	25900	27000	23000
Coliformes totaux (UFC/100 ml)		45000	45000	15000
Coliformes fécaux (UFC/100 ml)		25000	35000	2000
Streptocoques fécaux (UFC/100 ml)		9000	15000	45
ASR (UFC/100 ml)		Forte présence (indénombrable)	Forte présence (indénombrable)	Forte présence (indénombrable)

1.1.1. Les germes revivifiables

Les résultats de dénombrement des germes revivifiables représentés dans les figures (29, 30) nous montrent que la charge bactérienne au cours du mois d'avril est la plus développée, ou elle a atteint un maximum soit 27×10^3 UFC/100 ml dans les échantillons des boues moyennes, par ailleurs les valeurs les plus faibles des germes revivifiables sont enregistrées durant le mois de février remarquées dans les boues sèches soit 9×10^3 UFC/100 ml.

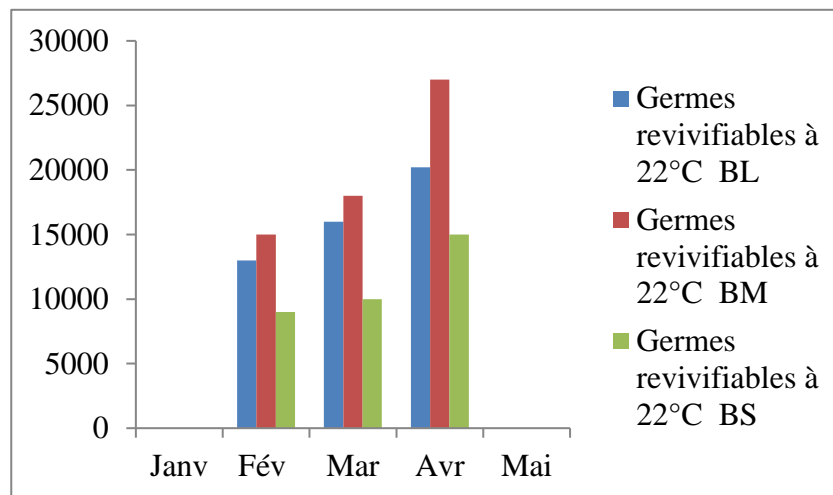


Figure 29 : Représentation graphique du dénombrement des germes revivifiables à 22°C.

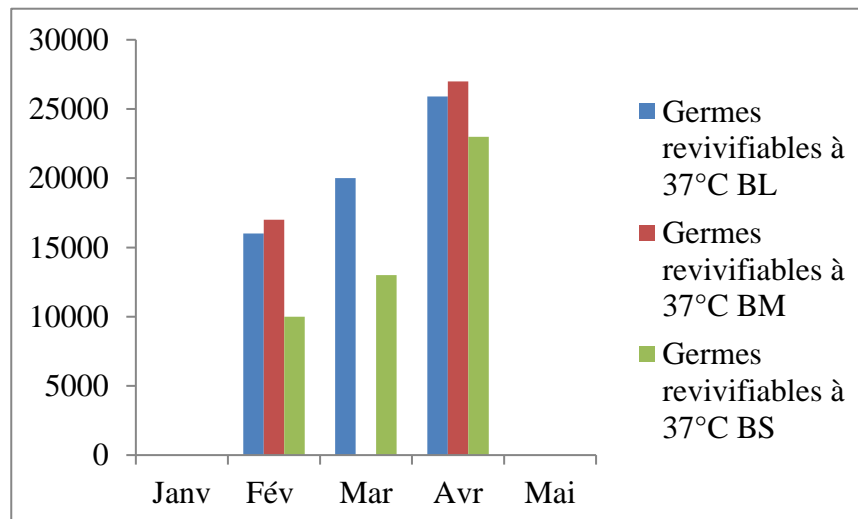


Figure 30 : Représentation graphique du dénombrement des germes revivifiables à 37°C.

1.1.2. Les coliformes totaux

Les résultats du dénombrement des coliformes totaux montrent des variations temporelles importantes où on a noté que la charge bactérienne la plus élevée a été enregistrée durant le mois d'avril remarquée surtout dans les boues liquides et moyennes (soit 45×10^3 UFC/100 ml), par ailleurs la charge bactérienne dans les mois de février et mars est la plus faible avec un minimum

de 4500 UFC/100 ml à caractérisé surtout les boues liquides, cependant on a enregistré l'absence des coliforme totaux dans les boues solides dans cette période.

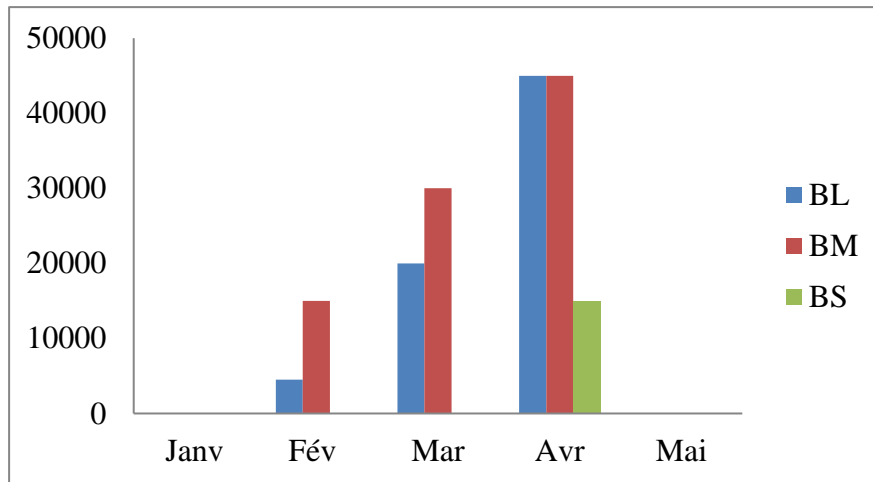


Figure 31: Représentation graphique du dénombrement des coliformes totaux.

1.1.3. Les coliformes fécaux

La figure 32 illustre les résultats du dénombrement des coliformes fécaux dans les différents échantillons, la forte concentration a été enregistrée au niveau de BM durant le mois d'avril (35×10^3 UFC/100 ml), alors que les valeurs les plus faibles ont caractérisé le mois de février avec un minimum de 11×10^2 UFC/100 ml, cependant les boues solides sont caractérisées par l'absence des coliformes fécaux durant cette période.

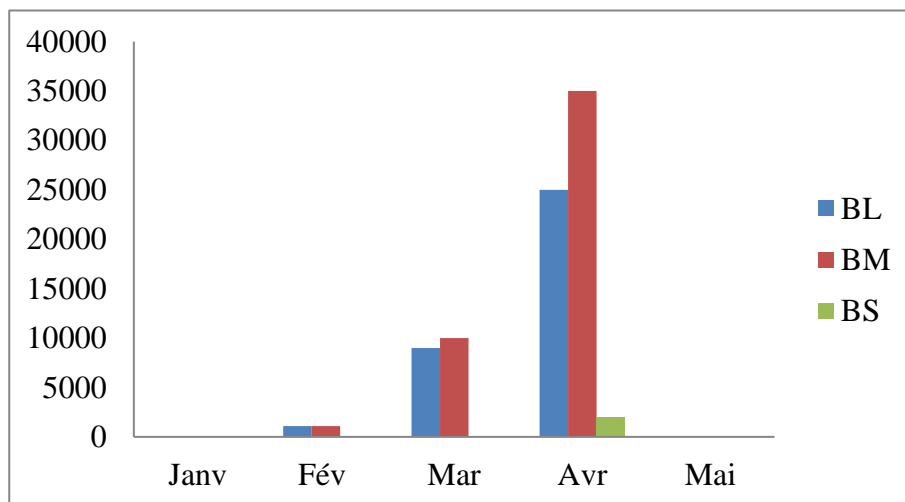


Figure 32: Représentation graphique du dénombrement des coliformes fécaux.

1.1.4. Les streptocoques fécaux

Pour les streptocoques fécaux, on a observé une augmentation du nombre des germes en fonction du mois de prélèvement. Le mois de février est marqué par une absence totale des SF pour les trois échantillons, alors que le mois d'avril a enregistré la valeur maximale soit 15×10^3 UFC/100 ml dans les BM.

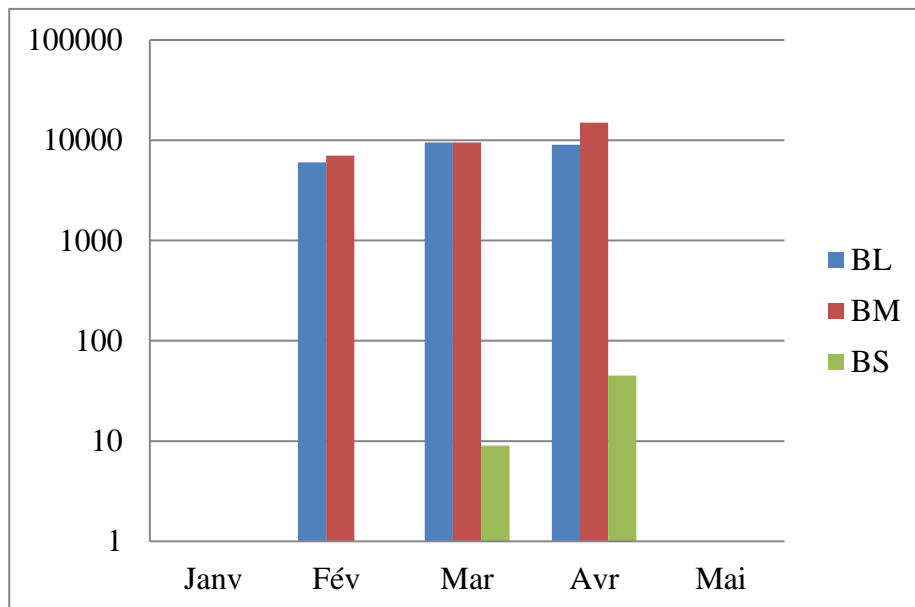


Figure 33 : Représentation graphique du dénombrement des streptocoques fécaux.

1.1.5. Les bactéries anaérobies sulfite-réductrices

Les ASR sont des contaminants peuvent avoir une origine fécale et représentent des indices d'une contamination ancienne.

Les résultats de la recherche et du dénombrement des ASR ont présenté une forte charge de ces germes ou les colonies ont été indénombrables pour les trois types des boues et dans les trois prélèvements (**fig. 34**).


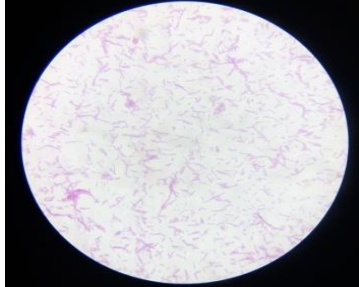
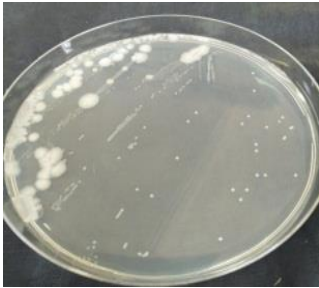
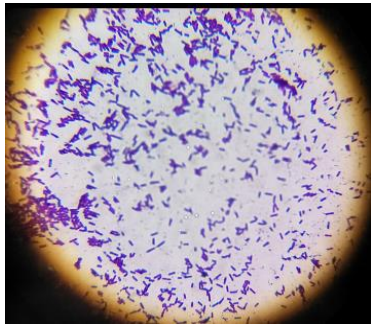

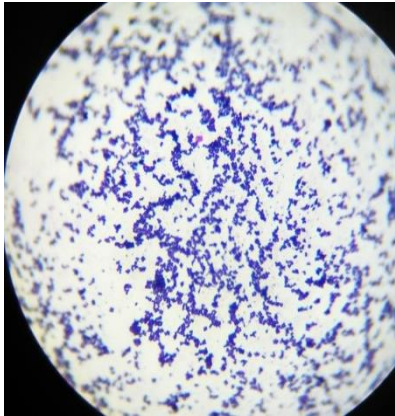


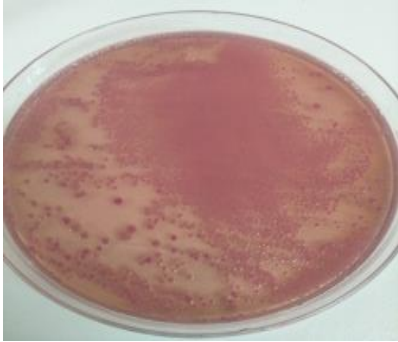
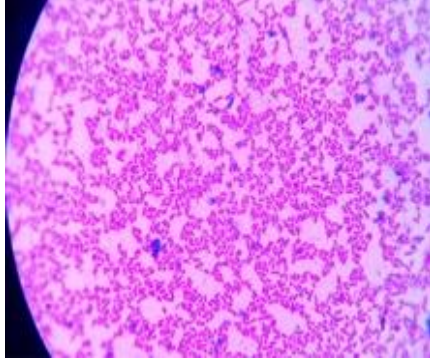

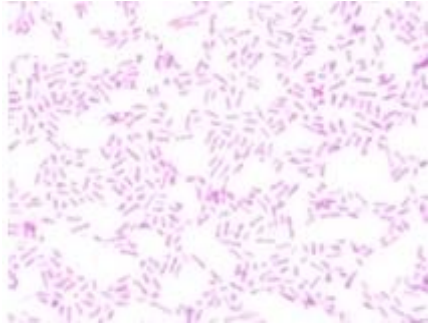
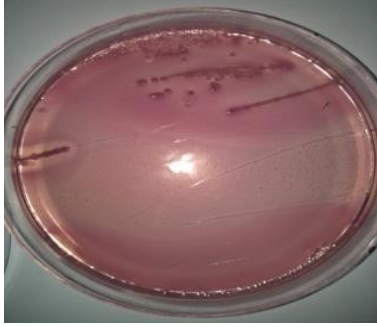
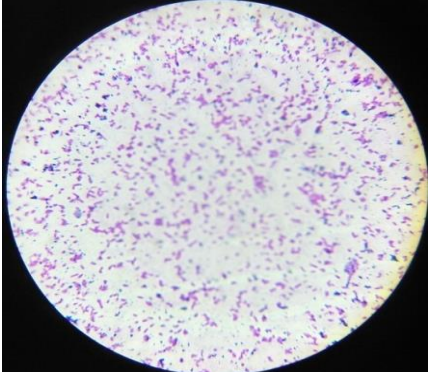
Figure 34 : Les résultats de dénombrements des ASR (Photo personnelle).

1.2. Recherche des bactéries pathogènes

1.2.1. Identification des espèces

Tableau 09 : Caractères morphologiques et coloration des Gram

Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique
<p style="text-align: center;">GNAB</p> 	<p>- Petite colonie circulaire, plate, blanche et lisse.</p>	
<p style="text-align: center;">GN</p> 	<p>- Petites, moyennes et grandes colonies rondes, lisses, plates, blanchâtres avec un contour régulier.</p>	
<p style="text-align: center;">Chapman</p> 	<p>-Petites, moyennes colonies rondes, plates, blanchâtres et jaunâtres avec un contour régulier. - Présence d'odeur désagréable. - Virage de couleur du milieu de rouge au jaune orange.</p>	

<p style="text-align: center;">SS</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Petites colonies de couleur rose, lisses ; plates et bombées. - Absence d'odeur 	
<p style="text-align: center;">Hektoen</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Petites colonies à contour régulier, lisses, plates, de couleur jaunâtre et orangé. 	
<p style="text-align: center;">Mac konckey</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - Petites colonies, lisses, plates et bombées, à contour régulier, de couleur rose, jaunâtre avec centre rose. 	

1.2.2. Identification biochimique des germes pathogènes

Les principales espèces isolées à partir des boues sont identifiées en utilisant la galerie biochimique classique et les API système E, NE et Staph. Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants.

Tableau 10: Résultats de l'identification bactérienne par la galerie classique

Milieux de culture	Espèces bactériennes identifiées
GN	<i>Citrobacter gilleni</i>
	<i>Serratia odorifera</i>
	<i>Erwinia hapontica</i>
Hectoen	<i>Coronobacter (Enterobacter) sakazakii</i>
	<i>Citrobacter murlinae</i>
	<i>Serratia odorifera</i>
	<i>Erwinia rhapontica</i>
	<i>Enterobacter amnigenus</i>
Mac Conkey	<i>Escherichia coli</i>
	<i>E. hermanni</i>
	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>
SS	<i>Salmonella sp</i>

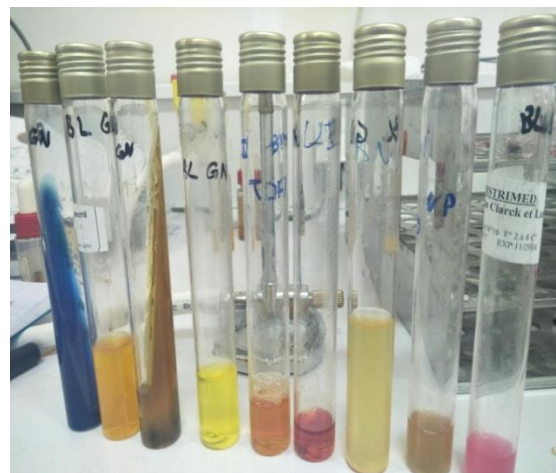


Figure 35 : Résultats de quelques galeries biochimiques classiques (Photos personnelles).

Tableau 11 : Résultats de l'identification bactérienne par l'API E, NE et Staph

API système	Identification	Espèces
API 20 E	2332002	<i>Proteus mirabilis</i>
	6232002	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	5124553	<i>Enterobacter inertmedus</i>
	7324572	<i>Selmonella choleraesuis</i> spp <i>arizonae</i>
	5144572	<i>Escherichia coli 1</i>
	5124572	<i>Escherochia coli 1</i>
	1144113	<i>Escherichia hermanii</i>
	0474020	<i>Proteus vulgaris</i> groupe 1
	5044552	<i>Escherichia coli 1</i>
	0476121	<i>Proteusvulgaris</i> group
API Staph	7324141	<i>Staphylococcus carnosus</i>
	7320141	<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>
	7776773	<i>Staphylococcus gallinarum</i>
	6714111	<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. <i>Urealyticus</i>
	6711111	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
	6230551	<i>Staphylococcus warneri</i>
	6234551	<i>Staphylococcus sciuri</i>
API NE	4767362	<i>Vibrio natriegens</i>
	5767362	<i>Vibrio mytili</i>



Figure 36 : Profil biochimique de *Serratia odorifera*



Figure 37: Profil biochimique de *Staphylococcus sciuri*



Figure 38: Profil biochimiques de *Vibrio natriegens*

En effet, les différentes espèces bactériennes isolées sont presque les mêmes espèces isolées généralement à partir des boues résiduaire citées dans la littérature en particulier par ALTMAYER et *al.*, (1990), et même dans les travaux de FERTAS et *al.*, (2014) qui ont travaillé sur la même station.

Plusieurs facteurs pourraient expliquer les variations saisonnières de la charge bactérienne des boues étudiées.

En effet, les concentrations élevées des bactéries enregistrées au niveau des boues moyennes âgées de plus de 1 mois par rapport aux boues liquides (boues récentes) et boues sèches (boues âgées de plus d'une année), sont principalement expliquées par la diminution de la quantité d'eau (dessiccation), l'augmentation des températures et la présence des quantités importantes de matière organique, en outre, le stockage des boues dans les lits de séchage diminue progressivement la charge bactérienne sous l'effet de la lumière, le lessivages et l'antagonismes entre les germes (FINDLAY, 1972).

Ces résultats ne sont pas en contradiction avec celle de FERTAS (2014), sur la même station, où ils ont présenté une régression de la charge bactérienne au fur et à mesure de l'augmentation de l'âge des boues. C'est ainsi que DUDLEY *et al.*, (1980), ont prouvé que 6 mois de stockage en été sont efficaces (réduction bonne à excellente) alors que 6 mois en hiver le sont beaucoup moins (réduction faible à moyenne). Tous les traitements qui favorisent le développement de la flore saprophyte et qui stabilisent la matière organique limitent les croissances ultérieures des germes pathogènes.

Ainsi, par la source de nutriments qu'elle représente, la matière organique des boues est favorable aux micro-organismes pathogènes. L'activité biologique du milieu diminue la résistance des micro-organismes par compétition pour les nutriments et sans doute aussi par prédation par des protozoaires ciliés (DUDLEY *et al.*, 1980). MILLNER *et al.*, (1987) ont montré aussi qu'il existait des antagonistes microbiens qui, lorsqu'ils sont présents, tuaient ou bien diminuaient la vitesse de croissance des salmonelles dans les boues.

Cependant, les variations temporelles des valeurs enregistrées, peuvent être expliquées par l'influence des changements des conditions hydrométéorologiques. La température et la précipitation ont le rôle le plus important en diminuant et/ou en augmentant les conditions du développement et de croissance bactérienne. La diminution de la concentration en coliformes totaux, en coliformes fécaux et en streptocoques fécaux durant les mois de février et de mars est due au fait que pendant la période des pluies, le niveau d'eau, dans les bassins de séchage, augmente, provoquant une dilution du milieu, en outre, durant cette période, la température s'abaisse et donc réduction du métabolisme et du nombre des bactéries.

En effet, Le stockage longue durée des boues est une alternative intéressante aux procédés visant à réduire les pathogènes (AHMED et SORENSEN, 1995). Le stockage stratégique est, d'après ELISSALDE *et al.*, (1994), considéré comme un traitement d'efficacité moyenne. Il peut néanmoins permettre, sous certaines conditions, une croissance bactérienne mais, généralement, la plupart des pathogènes sont incapables de se multiplier dans le milieu que constituent les boues et connaissent une évolution variable suivant les saisons.

Ainsi, durant toute la période de l'étude et avec les différents types des boues, la concentration en streptocoques fécaux est plus faible que celle des coliformes fécaux. Ces résultats, peuvent être expliqués par une différence dans le taux de déclin qui est plus rapide chez les streptocoques fécaux et qui peut être influencé par les facteurs abiotiques du milieu naturel.

Conclusion

D'après les résultats obtenus qui montrent que les boues de la STEP Guelma sont chargées en bactéries d'origine fécale surtout pendant les mois de haute température en particulier dans les boues âgées de 1 mois et plus, sans oublier la présence des germes pathogènes (*Salmonella*) remarquée surtout dans ce type de boue, nous pouvons conclure que le risque pour la santé animale et humaine suite à l'épandage de ces boues est fort.

A cet effet, et comme la boue concentre une charge microbienne, les risques liés à l'épandage des boues doivent être maîtrisés par le respect d'un certain nombre de règles précises. Il existe des recommandations qui traduisent des précautions sanitaires ou des restrictions d'usage :

- Restriction ou interdiction d'épandre sur des cultures particulières (telles que fruits et légumes consommables crus ou pâturages);
- Délais à respecter entre l'épandage et l'implantation ou l'utilisation de ces cultures particulières ;
- Contraintes sur les techniques d'épandage, l'époque et le traitement des boues.

Ainsi, à partir de ces résultats, un programme de surveillance bactériologique de la station d'épuration devrait être instauré afin d'évaluer la qualité des eaux en fin de processus d'épuration ainsi que des boues d'épuration après traitement stabilisant mais avant épandage.

Références

Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ABESSA R., TABEL S., 2014.** *Etude microbiologique et génotoxique des boues des eaux usées de la ville de Guelma.* Mémoire de Master. Université 8 mai 1945, Guelma. 70 p.
2. **ABOUELOUAFI M., ELHALOUANI H., KHARBOUA M. et BERRICHI A., 2002.** *Caractérisation physico-chimique et bactériologique des eaux usées brutes de la ville d'Ouajda, canal principal de Oued Bounaïm, Acte édition, Rabat, Vol 22.*
3. **AHMED A U., SORENSEN D L., 1995.** *Kinetics of pathogen destruction during storage of dewatered biosolids.* *Water Environ. Res.*, 67,143-150 p.
4. **ALTMAYER N., ABADIA G., SCHMITT S. et LEPRINCE A., 1990.** *Risque microbiologiques et travail dans les stations d'épuration des eaux usées.* Documents pour le médecin de travail. INRS. Paris. n°44. 373-388 p.
5. **AMIR S., 2005.** *Contribution à la valorisation de boues de stations d'épuration par compostage : devenir des micropolluants métalliques et organiques et bilan humique du compost.* Thèse Présentée pour obtenir le titre de docteur de l'institut national polytechnique de toulouse. France. 341 p.
6. **A.N.D.I, 2015.** Rapport dactylographie, wilaya de Guelma.
7. **AOUISSI A., 2010.** *Microbiologie et physico-chimique de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord est Algérie).* Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945, Guelma. 80 p.
8. **ATTAB S., 2011.** *Amélioration de la qualité microbiologique des eaux épurées par boues activées de la station d'épuration Haoud Berkaoui par l'utilisation d'un filtre a sable local.* Mémoire de Magister. Université Kasdi Merbah, Ouargla.152 p.
9. **AYAICHA M. et BAHLOUL A., 2016.** *Suivi de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux usées (STEP Guelma).* Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945, Guelma. 110 P.
10. **AZABI A., 2012.** *Influence des boues résiduelles sur le comportement d'une culture sous-jacente à Touggourt.* Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en sciences agronomiques. Université Kasdi Merbah, Ouargla. 90 p.
11. **AZIZI D., 2006.** *Cours national de microbiologie des eaux et des aliments.* Institut Pasteur d'Algérie.

12. **BEDOUH Y., 2014.** *Evaluation de la toxicité des eaux usées traitées parla station d'épuration de Guelma et son impact sur l'ognon "Allium cepa"*. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 149 p.
13. **BELAID D., 2015.** *Utilisation des boues résiduelles de station d'épuration en Algérie,* Dossier agronomiques. Algérie. 22 p.
14. **BELGHAOUTI T., 2012.** *Caractérisation physico-chimique et valorisation d'une boue de station d'épuration.* Mémoire de Magister. Université Mohamed Boudiaf, Oran, 135 p.
15. **BELTRANDO D. et CHEMERY L., 1995.** *Dictionnaire de climat.* Larousse.
16. **BEN RABEH F., 2001.** *Utilisation des boues d'épuration comme milieu de culture pour la production d'inoculant à base de rhizobium.* Thèse présentée pour l'obtention du grade de Philosophiae doctorat (Ph.D.) en Sciences de l'eau. Université du Québec INRS-Eau, Canada. 214 p.
17. **BERCHE P., Gaillard J-L., et SIMOUE T. M. 1988.** *Bactériologie, les bactéries des infections humaines.* Flammarion Médecine Sciences. France. 660 p.
18. **BODET J.M., 2001.** *Boues de stations d'épuration municipales Les enjeux et les risques de leur utilisation en agriculture,* ITCF. ed. 28 p.
19. **BOUCHAALA L., 2010.** *Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oeud-Zénati (Guelma).* Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945, Guelma. 135 p.
20. **BOUFELDJA B., 2017.** *Etude physico-chimique et microbiologique d'un fromage frais traditionnel « jben »fabriqué par « hakka ».* Mémoire de Master. Université Abou Beker Belkaid, Tlemcen.78 p.
21. **BOUKARROUCHA A.A., 2010.** *Modélisation des stations d'épuration à boues activées. Cas de la station de Beraki (Alger).* Mémoire de Magister. Ecole nationale supérieur d'agronomie Alharache. 173 p.
22. **CANLER J. et PERRET J., 2013.** *La réduction de boues par voie biologique par le procédé MycET.* 51 p.

- 23. CANLER J., PERRET J., DUCHERE P. et COTTEUX E., 2011.** *Aide au diagnostic des stations d'épuration par l'observation microscopique des boues activées*, Editions Quæ. ed. Quæ, France. 155 p.
- 24. CARBONELLE D. et KOUYOUMDJIAN S., 1988.** *Bactériologie médicale techniques usuelles. Méd. Mal Inf.* 251p.
- 25. CRINI G. et BADOT P.-M., 2007.** *Traitement et épuration des eaux industrielles polluées procédés membranaires, bioadsorption et oxydation chimique.* Presse universitaires de franche-comté. 352 p.
- 26. DELARRAS C., 2014.** *Pratique en microbiologie de laboratoire : recherche de bactéries et de levure-moisissures.* Lavoisier, France. 722 p.
- 27. DELARRAS C., 2010.** *Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux*, 2ème. ed. Lavoisier, France. 588 p.
- 28. DELARRAS C., 2008.** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse et de contrôle sanitaire.* Tec & doc/Lavoisier, France. 476 p.
- 29. DELARRAS C., 2000.** *Microbiologie de l'environnement avec législation travaux pratiques commentés.* Gaetanmorin Europe, Canada. 388 p.
- 30. DEROUICHE F., 2011.** *Contribution a l'étude des boues résiduaires comme amendement organiques pour les cultures maraichères.* Université d'Oran. Mémoire de Magister. Université d'Oran, 126 p.
- 31. DESHAYES M., 2008.** *Guide pour l'établissement des plans d'assurance de la qualité dans le cadre de la réalisation des stations d'épuration de type boues activées en lots séparés.* Mémoire de projet de fin d'étude. INSA de Strasbourg, France. 79 p.
- 32. DUDLEY D.J., GUENTZEL M.N., IBARRA M.J., MOORE B.E. et SAGIK B.P., 1980.** *Enumeration of potentially pathogenic bacteria from sewage sludges.* Appl. Environ. Microbiol., 39, 118-126.
- 33. ELISSALDE N., GANIERE J.P. et L'HOSTIS M., 1994.** *Les germes pathogènes dans les boues résiduaires des stations d'épuration urbaines.* Collection valorisation agricole des boues d'épuration, Connaître pour agir, Guides et cahiers techniques, 87 p.

34. **FARTAS K., LAOUISSI H. et ZAUAIMIA S., 2014.** *Etude microbiologique des boues des eaux usées de la ville de Guelma.* Mémoire de Master. 08 mai 1945-Guelma, 117 p.
35. **FINDLAY C.R., 1972.** *The persistence of Salmonella dublin in slurry in tanks and on pasture.* *Vet. Rec.*, 91, 233- 235 p.
36. **GASSAAJA D., 2002.** *Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale dans les filets des sols.* Mémoire de diplôme d'études approfondies. Cheikh anta diop de Dakar, Senegal. 46 p.
37. **GUEZLANE-TEBIBEL N., KAHLOUCHE B. et ATHAMANI-GUEMOURI S., 2008.** *Microbiologie*, 4973rd ed. Office des Publications Universitaires, 90 p.
38. **GUIRAUD J.P., 1998.** *Microbiologie alimentaire.* Dunod. 615 p.
39. **JACOB B., KORSAK N., GROOVEN B., FLAMENT E. et DAUBE G., 2002.** *Incidence d'une station d'épuration biologique sur le niveau de contamination en salmonelles des eaux et des boues résiduaires.* 303–310 p.
40. **JARDI E., 2002.** *Composition organique de boues résiduaires de stations d'épuration lorraines : Caractérisation moléculaire et effets de la biodégradation.* Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy I, France. 287 p.
41. **J.O.R.A,** Journal Officiel de la République Algérienne, **2016.** *Méthodes officielles d'analyses Physico-Chimiques et Microbiologiques.*
42. **KAROUNE S., 2008.** *Effets des boues résiduaires sur le développement des semis du chêne liège (Quercus suber L.)* Mémoire de Magister. Mentouri Constantine, 244 p.
43. **KOLLER E., 2004.** *Traitement des pollutions industrielles eau, air, déchets, sols, boues,* 2nd ed. L'Usine nouvelle. 569 p.
44. **LABRES E. et MOUFFOK F, 2008.** *Cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux et des boissons. Manuel des travaux pratique des eaux.* Institut Pasteur d'Algérie. 53 p.
45. **LEBRES E., AZIZI D., et BOUDJELLAB B., 2006.** *Cours d'hygiène et de microbiologie des eaux : Microbiologie des eaux et des boissons,* Institut Pasteur d'Algérie.
46. **LEBRES E., 2004.** *Identification biochimique des microorganismes.* Institut Pasteur d'Algérie.
47. **LEBRES E., 2004.** *Les Salmonella.* Institut Pasteur d'Algérie.

- 48. LEBRES E., AZIZI D., HAMZA A. et TAOUCHICHET B., 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.
- 49. MARTIN L., 2010.** *Introduction à la microbiologie*, 2eme ed. ERPI Sciences, Canada.576 p.
- 50. METAHRI M.S., 2012.** *Elimination simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées, par des procédés mixtes. Cas de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou.* Thèse de Doctorat. Université de Mouloud Mammri de Tizi-Ouzou.
- 51. MAZIERES J., RICHARD B. et MAZIERES S., 1980.** *Une méthode de recherche rapide des coliformes fécaux dans les aux de mer et les coquillages. Rtv. Tcav. Inst. Pêches marit.*
- 52. MILLNER P.D., POWERS K.E., ENRIKI N.K. et BURGE W.D., 1987.** *Microbially mediated growth suppression and death of Salmonella in composted sewage sludge. Microb. Ecol.*,14, 255-265 p.
- 53. MUBA MOPILI., 2012.** *Traitement des eaux usées par macrophytes.* Universitaires européennes.100 p.
- 54. ONA, 2017.** Office National d'Assainissement. La réutilisation des eaux usées. Service d'exploitations. Document interne sur le site : <http://ona-dz.org/REUE.html>.
- 55. ONA, 2011.** Office National d'Assainissement. *Journée mondiale de l'eau 22 Mars 2011.* 20 p.
- 56. PATRICK B., Gaillard J.L et Simonet M., 1988.** *Bactériologie*, collection de la biologie à la clinique, Flammarion, France, 660 p.
- 57. PELMONT J., 1996.** *Bactéries et environnement : adaptations physiologiques, Grenoble sciences.* EDP, France.
- 58. PECHERE J.C., ACAR J., GRENIER B. et NIHOUL E., 1982.** Reconnaître, comprendre et traité les infections. 4^{ème} édition. *Edisem ST-Hyacinthe. Québec.* 509 p.
- 59. PILET C., 1987.** *Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne.* Doin. 371 p.
- 60. PONY A., 2009.** *Estimation de performances épuratoires : Caractérisation de boues de station d'épuration.* Mémoire de Master. Université Pierre et Marie Curie, École des Mines de Paris & École Nationale du Génie Rural des Eaux et des Forêts, Paris- France. 49 p.

- 61. RAMDANI N., 2005.** *Contribution à l'étude des boues urbaines de la station d'épuration des eaux usées résiduaires: effet sur la fertilité d'un sol sableux.* Mémoire de Magister. Université d'Oran, 154 p.
- 62. REJSEK F., 2002.** *Analyse des eaux : techniques et aspects réglementaires.* Ed. Scérèn CRDP Aquitaine. 358 p.
- 63. RENO S., 2006.** *Analyse de cycle de vie appliquée aux systèmes de traitement des eaux usées.* Thèse de Doctorat. École Nationale Supérieure des Industries Chimiques, France. 260 p.
- 64. RODIER J., LEGUBE B. et MERLET N., 2009.** *L'analyse de l'eau*, 9th ed, Technique Et Ingenierie. DUNOD, Paris- France. 1600 p.
- 65. ROUAIGUIA M., 2010.** *Qualité microbiologie de l'eau de Oued Messida.* Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945, Guelma 78 p.
- 66. ROULA S., 2005.** *Caractérisation physico-chimiques et valorisation des boues résiduaires urbaines pour la confection de substrats de culture en pépinière hors-sol.* Mémoire de Magister. Colonel El Hadj Lakhder Batna, 115 p.
- 67. TABET M., 2015.** *Etude physico-chimique et microbiologique des eaux usées et évaluation du traitement d'épuration.* Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat. Université 8 Mai 1945, Guelma, 161 p.
- 68. TANDIA C.T., 2007.** *Contrôle et suivi de la qualité des eaux usées. Protocole de détermination des paramètres physico-chimiques et bactériologiques.* CREPA.
- 69. TELLI S.M., 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 de Master. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, 174 p.
- 70. SAYED L., 2008.** *Qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre Lac des oiseaux (Wilaya de Taref).* Mémoire de Magister, Université Badji Moukhtar, Annaba.125 p.
- 71. VIOLLET., 2015.** *Méthode de prélèvement d'échantillons de sol.* 30 p.
- 72. ZEGHOUD M.S., 2013.** *Etude de système d'épuration des eaux usées urbaines par lagunage naturel de village de Méghibra.* Mémoire de Master. Université D'EL -OUED, 90 p.

Annexes

Annexe 1

Précipitation moyenne annuelle de 10 ans Dans la wilaya de Guelma

Ann	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sept	Oct	Nov	Dec	Anl
2005	69,8	97,5	64,4	85,7	5,3	19,4	3	5,3	11	17,4	17,1	145,2	541
2006	140,1	76,7	42,7	14,2	43	1,3	4,5	12,6	12,3	12,8	28,6	89,5	478
2007	33,5	43,7	215,9	94,4	17,4	28,3	3,5	0,8	63,9	84,2	64,7	72,7	723
2008	16	11,5	91,8	22,3	53,5	14,8	5,9	4,3	29,5	25,4	70,5	35,7	381,8
2009	160,4	67,1	98	134,2	88,9	0,3	7,9	49,3	140,3	58,7	22,6	62,6	890,3
2010	102,6	27,1	60,7	46,4	53,5	23,5	0,8	10	23,4	69,8	147,9	48,4	614,1
2011	30,3	148,5	78,6	42,1	62	29,5	1,2	1,3	18,6	178,3	40,5	80,1	711
2012	82,8	141,4	89	51,6	4,7	1,8	1,3	25,1	65,3	38,7	34,9	34,4	571
2013	90,7	107,9	64,9	42	14,5	1,2	6,2	54,8	54,1	34,2	122,6	37,5	630,6
2014	56,5	48,4	139,5	4,4	37	12,7	0,5	1,7	7,1	29,3	14,9	159,7	511,7
2015	131,1	152	94,9	3,7	28,4	2,2	4,7	18,5	41,3	75,1	115,9	0,8	668,6

Annexe 2

Température moyenne annuel de 10 ans Dans la wilaya de Guelma

Année	Jan	Fév	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Aout	Sept	Oct	Nov	Déc
2005	7,7	7,8	12,4	15,5	20,2	24,7	27,3	25,7	23	20	14,8	9,8
2006	8,6	9,9	13,2	17,2	21,6	25,3	27,8	26,2	23,3	21,1	15,3	11,1
2007	10,2	11,6	11,4	15,4	18,9	24	26,9	26,8	23,2	19	12,6	9,7
2008	9,4	10	11,7	15,4	19,8	23	27,7	27,5	23,8	19,8	13,7	10,1
2009	10	9,9	11,8	13,8	19,9	23	28,5	27,5	22,5	18,2	14,2	12,8
2010	10,5	11,8	12,6	16,1	18	22,4	27,1	26,6	23	19,2	15	11,8
2011	10	9,6	12,5	16,4	19,1	22,7	26,8	27,3	24,2	18,6	15,2	10,8
2012	9,1	7,2	12,5	15,4	19,2	26,4	28,2	29,1	24	20,5	16	10,9
2013	9,8	9,1	13,9	15,6	18,2	21,9	27	26,2	23,4	22,3	14,4	10
2014	11,1	11,1	11,4	15,5	18,7	24,1	26,4	27,4	26,2	21,4	17,2	11,3
2015	10,1	9,2	12,7	15,5	20,1	24	28	28,1	24,3	20,3	14,6	10,4

Annexe 3

Humidité moyenne annuelle de 10 ans Dans la wilaya de Guelma.

Année	jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Sep	Oct	Nov	Déc	Total
2005	80,4	78,7	76,8	76	67,8	62,8	58,5	67,4	74,4	68,5	79	70,9
2006	79,2	77	70,3	69,5	69,8	53,5	53,1	63,6	63,1	72,2	81,1	68,2
2007	78,4	76,3	80,3	78,8	71,2	66,9	55,9	67,4	78,7	78,9	80,1	72,6
2008	77,9	75,9	73,1	66,3	67,8	61,6	54,4	66,3	70	67,5	75,3	67,7
2009	78,9	71,4	73,1	77,6	72,8	59,9	52,7	75,8	76,5	76,8	75,5	70,4
2010	75,4	72,8	77,7	74,3	67,5	63,5	56,5	67,6	65,8	70,3	65	67,9
2011	79,9	77,3	74,4	72,1	69,8	68	58,1	67,2	75,4	76,5	79	71
2012	80,4	79,2	77,5	73,6	67	53,8	55,6	66,7	71,3	75,5	75,7	69,4
2013	76,5	73,8	70,9	72,2	68,6	58,4	59,6	73,7	69,4	73,2	81,1	70
2014	73	74,3	79	71	69,3	61,9	56,6	58,7	64,3	62,4	77,3	67,2
2015	74,4	75,9	73,3	71,8	67	59,4	57,3	67,4	71,5	81	79,4	70

Annexe 4

Vents moyenne annuel de 10 ans dans la wilaya de Guelma

An	Jan	Fev	Ma	Av	Mai	Juin	Juill	Ao ut	Sep	Oc	Nov	De	Ann
2005	2,1	2,7	1,8	2,2	1,6	1,9	1,9	2	1,7	0,9	1,9	1,7	1,9
2006	1,7	1,9	2,4	2	1,7	2,3	1,7	1,9	1,8	1,3	1,3	1,2	1,8
2007	0,9	2,2	2,5	1,6	1,9	1,9	1,9	2	2,1	1,8	1,4	1,8	1,8
2008	1,1	1	2,6	2,3	2,1	1,9	1,9	1,5	1,4	1,7	2,4	2,2	1,9
2009	1,9			2,1							0,1	2,3	1,7
2010				1,4	1,6	1,6	1,7	1,4	1,5	1,6	1,9	1,4	1,6
2011	0,7	1,6	1,8	1,9	1,8	1,6	1,8	1,4	1,4	1,2	1,6	1,9	1,6
2012	1,5	2,4	1,4	2	1,5	1,8	2,1	1,4	1,4	1,4	1,1	1,3	1,8
2013	2,2	2,6	2,3	1,8	2	2	1,6	1,9	1,1	1	2,6	1,3	1,9
2014	2,2	1,3	2,2	2	1,6	1,8	1,7						1,8
2015											1,5	1	1,8

Annexe 5

Table de Mac Grady (Le nombre le plus probable)

Limites de confiance		NPP dans 100 ml	Nombre de tube donnant une réaction positive sur		
Supérieure	Inférieure		5 tubes de 1 Ml	5 tubes de 10 ml	1 tube de 50 ml
		<1	0	0	0
4	<0,5	1	1	0	0
6	<0,5	2	2	0	0
4	<0,5	1	0	1	0
6	<0,5	2	1	1	0
8	<0,5	3	2	1	0
6	<0,5	2	0	2	0
8	<0,5	3	1	2	0
11	<0,5	4	2	2	0
8	<0,5	3	0	3	0
13	<0,5	5	1	3	0
13	<0,5	5	0	4	0
4	<0,5	1	0	0	1
8	<0,5	3	1	0	1
11	<0,5	4	2	0	1
15	<0,5	6	3	0	1
8	<0,5	3	0	1	1
13	<0,5	5	1	1	1
17	1	7	2	1	1
21	2	9	3	1	1
13	<0,5	5	0	2	1
17	1	7	1	2	1
23	3	10	2	2	1
28	3	12	3	2	1
19	2	8	0	3	1
26	3	11	1	3	1
34	4	14	2	3	1
53	5	18	3	3	1
66	6	21	4	3	1
31	4	13	0	4	1
47	5	17	1	4	1
59	7	22	2	4	1
85	9	28	3	4	1
100	12	35	4	4	1
120	15	43	5	4	1
75	8	24	0	5	1
100	12	35	1	5	1
140	18	54	2	5	1
220	27	92	3	5	1
450	39	160	4	5	1
		>240	5	5	1

Annexe 6

Tableau de lecture de la galerie API 20 E (DELARRAS, 2008).

Tests	Composants actifs (réactions/enzymes)	Résultats	
		Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényle- β -D-galactopyranoside	incolore	Jaune (et coloration jaune légère)
ADH	L-arginine	Jaune	Rouge/orange
LDC	L-lysine		
ODC	L-ornithine		
CIT	Trisodium citrate	Vert pâle/ jaune	Bleu vert/ bleu (dans la cupule)
H₂S	Sodium thiosulfate	Incolore, grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Jaune	Rouge/ orangé
TDA	L-tryptophane (tryptophane désaminase)	Jaune	Marron- rougeâtre
IND	L-tryptophane (production d'indole)	Incolore, vert pâle	Rose
VP	Sodium pyruvate	incolore	Rose/ rouge
GEL	Gélatine d'origine bovine	Pas de diffusion	Diffusion de la pigmentation noire
GLU	D-glucose	Bleu/ bleu vert	jaune
MAN	D-mannitol		
INO	Inositol		
SOR	D-sorbitol		
RHA	L-rhamnose		
SAC	D-saccharose		
MEL	D-melibiose		
AMY	Amygdaline		
ARA	L-arabinose		

Annexe 7

Extrait du tableau de lecture de la galerie API 20 NE (DELARRAS, 2008).

Tests	Compositions actifs (réactions/enzymes)	Résultats	
		Négatif	Positif
NO	Potassium nitrate	incolore	Rose rouge
	(réduction des nitrates en nitrites)	Rose après Zn	Incolore après Zn
TRP	L-tryptophane (formation d'indole)	Incolore à vert pâle/jaune	Rose
GLU	D-glucose (fermentation)	Bleu à vert	Jaune
ADH	L-arginine (arginine dihydrolase)	Jaune	Orange/ Rose/ rouge
URE	Urée (uréase)		
ESC	Esculine et citrate de fer (hydrolyse de l'esculine)	Jaune	Gris/marron/ noir
GEL	Gélatine (origine bovine)	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment noir
	Hydrolyse par protéase		
PNPG	4-nitrophényl-βD-galactopyranoside (β-galactosidase)	incolore	Jaune
GLU	D-glucose ³	Transparence	Trouble
ARA	L-arabinose		
MNE	D-mannose		
MAN	D-mannitol		
NAG	N-acétylglucosamine		
MAL	D-maltose		
GNT	Potassium gluconate		
CAP	Acide caprique		
ADI	Acide adipique		
MLT	Acide malique		
CIT	Trisodium citrate		
PAC	Acide phénylacétique		
OX	Test oxydase hors galerie		

Annexe 8

Tableau de lecture de la galerie API Staph (DELARRAS, 2008).

Test	Composants actifs (réactions/ enzymes)	Résultat	
		Négatif	Positif
0	Aucun (témoin négatif)	Rouge	-
GLU	D-glucose	Rouge	jaune
FRU	D-fructose		
MNE	D-mannose		
MAL	D-maltose		
LAC	D-lactose		
TRE	D-tréhalose		
MAN	D-mannitol		
XLT	Xylitol		
MEL	D-mélibiose		
NIT	Nitrate de Potasium (réduction des nitrates en nitrites)		
PAL	β -naphtyl phosphate (phosphte alcaline)	Jaune	Violet
VP	Pyruvate de sodium (production d'acétoïne)	Incolore à rose pâle	Violet à rose
RAF	D-raffinose	Rouge	Jaune
XYL	D-xylose		
SAC	D-saccharose		
MDG	Méthyle- α D-glucopyranoside		
NAG	N-acétyl-glucosamine		
ADH	L-arginine (arginine dihydrolase)	Jaune	Orange à rouge
URE	Urée (uréase)	Jaune	Rouge à violet