

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 :** Biologie Moléculaire et Cellulaire

**Département :** Biologie

### Thème :

---

---

**Contribution à l'étude microbiologique des boues**

**« Cas de la station d'épuration STEP de Guelma »**

---

---

**Présenté par :**

- Boukeskes Manel
- Fardjallah Ines

**Devant le jury composé de :**

**Président (e) :** Khallel Messaouda

**M.C.A**

**Université de Guelma**

**Examineur :** Tabet Mouna

**M.C.B**

**Université de Guelma**

**Encadreur :** Benouareth Djamel eddine

**Professeur**

**Université de Guelma**

**Juillet 2021**

## **Remerciement**

*En tout premier lieu, nous remercions le bon **Dieu**, le tout puissant et miséricordieux, de nous avoir donné la force pour continuer, ainsi que le courage pour dépasser toutes les difficultés.*

*Notre plus grande gratitude va à notre encadreur le Professeur **BENOUARETH D. E**, pour sa grande disponibilité et pour la confiance qu'il nous a accordé tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour sa patience, sa gentillesse, et son esprit responsable, critique et rigoureux. Nous le remercions pour ses connaissances dont il nous a fait bénéficier.*

*On voudra remercier tous les membres du jury qui vont juger ce modeste travail et nous ont faits profiter de leurs connaissances et remarques constructives*

***M<sup>me</sup> Khallef M** qui nous a fait l'honneur de présider le jury. Veuillez accepter l'expression de notre sincère reconnaissance, **M<sup>me</sup> Tabet M** qui a spontanément eu la volonté et l'honneur d'examiner ce travail. Nous tenons à exprimer nos profondes gratitude pour le temps précieux que vous consacrer pour juger ce travail. Leurs critiques et commentaires seront bénéfiques pour enrichir nos connaissances dans ce domaine.*

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à **Mr Guerroui Yassin** pour son aide pratique et son soutien moral ainsi que pour ses judicieux conseils.*

*Nous tenons à remercier **M<sup>me</sup> Hayat** technicienne de laboratoire, pour nous aider à compléter nos recherches en fournissant tous les matériels nécessaires.*

*Nos profondes sincères remerciements pour tous les enseignants de département  
« Biologie »*

*Nous adressons également nos profonds remerciements aux responsables de la station d'épuration des eaux usées de la ville de Guelma pour leur accueil, leurs aides et leurs conseils.*

*A toutes les personnes citées et les autres que nous aurions pu oublier*

**Merci**

***"MAITRISER LA QUALITE DE  
L'EAU.....VASTE  
DEFI AUX ENJEUX VITAUX"***

*Kofi Annan*



## *Dédicace*

*En premier, je remercie **ALLAH**, le tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens pour la réalisation de ce travail.*

*Je dédie ce travail :*

*A la mémoire de ma « **grand-mère** » / Mes « **grands-pères** ». Votre souvenir restera à  
Jamais gravé dans mon cœur.*

*A ma chère grand-mère « **Yamina** » pour ses soins et son amour précieux.*

*A mes « **chers parents** », pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, Merci d'être toujours là pour moi.*

*A ma sœur et mes frères : « **Soulef** », « **Iheb** » et « **Salah eddine** » pour leurs encouragements permanents, je souhaite un avenir radiant plein de réussite, Que dieu vous protège.*

*A mon beau-frère « **Walid** » et mes aimables cousins et cousines que j'aime profondément surtout mes anges « **Jouri** » et « **Shayth** ».*

*A toutes mes copines surtout « **Bouthaina** », « **Imen** » et « **Randa** » .... Merci pour tous ces agréables moments passés ensemble, je vous aime énormément.*

*Je dédie mes sincères sentiments d'amour et d'amitié à mon binôme « **Manel** » pour sa persévérance, sa positive énergie ainsi que sa volonté, pour tous les bons moments qu'on a Vécu. Ensemble nous avons pu surmonter pleins d'obstacles Merci.*

*Et au final à tous ceux qui me sont chers, et à toutes personnes qui m'ont aidé de*

*Près ou de loin.*

*Merci...*

*« **INES** »*

## **Dédicace**

*En premier, je remercie **ALLAH**, le tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens pour la réalisation de ce travail.*

*A la mémoire de mes **Grands-mères** et mes **Grands-pères**. Que dieu leurs donne sa miséricorde*

### **A MES TRES CHERS PARENTS**

*Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte. Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements. Jamais il n'aurait vu le jour sans les conseils que vous avez consentis pour mon éducation. Je voudrais vous remercier pour votre amour que vous ma porter depuis toujours et surtout pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour nous. Que Dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.*

### **A MES FRERES AYMEN ET RAMY**

*À tous les moments d'enfance passés avec vous mes frères, en gage de ma profonde estime pour l'aide que vous m'avez apporté. Vous m'avez soutenu, réconforté et encouragé. Merci d'être toujours à mes côtés. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.*

*A mon oncle **Dr Madi Salah**, je suis très reconnaissante et je ne te remercierai jamais assez pour tes précieux conseils.*

*A mes très chères amies, Rana Samar, Mélissa, Boutheyna, Salsabil, Lamis, Selma, Rania, Lina et Maya. Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, Merci d'être toujours à mes côtés.*

*A **Hassna et Roumaïssa**, pour leur soutien, leurs conseils et surtout pour leurs encouragements, Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

### **A MON BINOME INES**

*Pour ton amour et ton support, pour tous les bons moments qu'on a vécu et pour l'amitié précieuse qui nous réunit. Ensemble nous avons pu surmonter pleins d'obstacles Merci. Et au final à tous ceux que j'aime et qui m'aiment et à toutes personnes qui m'ont aidé de près ou de loin.*

*Merci...*

**Manel**

# Sommaire

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Liste des abréviations

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

### Chapitre I Généralités sur les eaux usées

1. Définition d'une eau usée.....	3
2. Origine des eaux usées.....	3
2.1 Origine domestique.....	3
2.2 Origine agricole.....	3
2.3 Origine industrielle .....	4
2.4 Origine pluviale.....	4
3. Caractéristiques des eaux usées.....	4
3.1 Les paramètres physicochimiques .....	4
3.1.1 La température.....	4
3.1.2 Le potentiel d'Hydrogène (pH) .....	4
3.1.3 La turbidité.....	4
3.1.4 Les matières en suspension (MES).....	5
3.1.5 La conductivité électrique (CE) .....	5
3.1.6 La demande biochimique en oxygène (DBO5).....	5
3.1.7 La demande chimique en oxygène (DCO) .....	5
3.1.8 La biodégradabilité .....	5
4. Les filières de traitements des eaux usées .....	5
4.1 Prétraitement.....	6
4.1.1 Dégrillage .....	6
4.1.2 Le dessablage.....	7
4.1.3 Le déshuilage (dégraissage) .....	7
4.1.4 La neutralisation .....	7
4.2 Le traitement primaire (décantation - flottation).....	8
4.2.1 La décantation primaire classique .....	8
4.2.2 La flottation (processus physique) .....	9
4.3 Le traitement biologique (traitement secondaire).....	9

4.3.1 Les lits bactériens (culture fixe) .....	9
4.3.2 Les bio-disques (culture fixe).....	10
4.3.3 Les boues activées (culture libre) .....	11
4.3.4 Le lagunage (culture libre) .....	11
4.4 Traitement tertiaire.....	12
4.4.1 La désinfection par chloration.....	12
4.4.2 La désodorisation .....	13
4.4.3 La déphosphoration .....	13

## **Chapitre II Traitement des boues**

1. Généralités.....	14
2. Définition des boues d'épuration .....	14
3. Les différents types de boue .....	14
3.1 Selon l'origine .....	15
3.1.1 Les boues industrielles .....	15
3.1.2 Les boues primaires .....	15
3.1.3 Les boues biologiques ou secondaires .....	15
3.1.4 Les boues physico-chimiques.....	15
3.1.5 Les boues mixtes.....	15
3.1.6 Les boues d'aération prolongée .....	15
3.2 Selon l'état physique.....	16
3.2.1 Boues liquides .....	16
3.2.2 Boues pâteuses .....	16
3.2.3 Boues solides chaulées .....	16
3.2.4 Boues solides compostées.....	17
4. Caractéristiques des boues .....	17
4.1 Caractéristiques physico-chimiques .....	17
4.1.1 Matière sèche (MS) et siccité (S).....	17
4.1.2 Matières en suspension .....	17
4.1.3 Fraction volatile FV (en % des MS).....	17
4.1.4 Indice de boue SVI (Sludge Volume Index) .....	18
4.2 Caractéristiques biologiques .....	18
4.2.1 Composition des matières organiques.....	18
4.2.2 Composition des matières minérales .....	18

4.2.3 Les Micropolluants .....	18
4.2.4 Les microorganismes et la microfaune des boues activées .....	18
4.2.4.1 La microfaune .....	19
4.2.4.2 Les principales communautés bactériennes des stations d'épurations .....	19
a. Les microorganismes responsables de l'élimination de l'azote .....	19
b. Les microorganismes responsables de l'élimination du phosphore.....	20
c. Les bactéries filamenteuses .....	21
4.2.4.3 Les substances de réserve chez les microorganismes des boues.....	24
a. Les poly- $\beta$ - hydroxyalkanoates .....	24
b. Les polyphosphates .....	24
c. Le glycogène .....	24
5. Le traitement des boues .....	24
5.1 Épaississement des boues.....	25
5.1.1 Epaississement gravitaire.....	26
5.1.2 Epaississement dynamique .....	26
5.1.2.1 Epaississement par flottation.....	26
5.1.2.2 Épaississement par centrifugation .....	26
5.2 Stabilisation des boues .....	27
5.2.1 Stabilisation biologique.....	27
5.2.2 Le compostage.....	27
5.2.3 La stabilisation chimique .....	27
5.2.4 Le séchage thermique .....	27
5.3 La déshydratation des boues.....	27
5.3.1 Lit de séchage .....	28
5.3.2 Le séchage thermique .....	28
5.3.3 Déshydratation mécanique.....	28
5.4 Les traitements d'hygiénisation .....	28
6. Destination finale des boues .....	28
6.1 La mise en décharge .....	28
6.2 Incinération .....	29
6.3 Valorisation agricole.....	29

### **Chapitre III Matériel et Méthodes**

1. Objectif .....	30
-------------------	----



2. Description de la STEP des eaux usées de la ville de Guelma.....	30
2.1 Localisation et fonctionnement de la STEP.....	30
3. Le mode de prélèvement .....	30
3.1 Prélèvement de boues sèches.....	30
4. Analyse bactériologique .....	30
4.1 Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C .....	31
4.2 Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale .....	32
4.2.1 Recherche et dénombrement des <i>Coliformes totaux et Coliformes fécaux</i> .....	33
4.2.2 Recherche et dénombrement des <i>Streptocoques fécaux</i> .....	35
4.2.3 Recherche et dénombrement des spores de bactéries <i>Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)</i> .....	37
4.3 Recherche et dénombrement des <i>Streptomyces</i> .....	39
4.4 Recherche des germes pathogènes.....	40
4.4.1 Recherche et dénombrement du <i>Pseudomonas</i> .....	40
4.4.2 Recherche des <i>Staphylocoques</i> .....	41
4.4.3 Recherche des <i>Entérobactéries</i> .....	42
4.4.3.1 Recherche des <i>Salmonelles</i> .....	42
4.4.3.2 Recherche des <i>Shigelles</i> .....	43
4.4.3.3 Recherche des <i>Vibrio</i> .....	44
4.4.3.4 Recherche des levures ( <i>Candida albicans</i> ) et des moisissures.....	46
5. Identification des bactéries isolées.....	47
5.1 Examen macroscopique des caractères cultureux.....	47
5.2 Examen microscopique .....	48
5.2.1 Examen microscopique à l'état frais .....	48
5.2.2 Examen microscopique après coloration de Gram (coloration différentielle).....	48
5.2.3 Coloration au bleu de méthylène (coloration non différentielle).....	49
5.3 Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques.....	49
5.3.1 Caractères enzymatiques.....	49
5.3.2 Caractères biochimiques .....	50
5.4 L'antibiogramme.....	54

## Chapitre IV Résultats et interprétations

1. Résultats des analyses bactériologiques des boues étudiées.....	56
1.1 Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C .....	57

1.2 Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale .....	57
1.2.1 <i>Coliformes totaux</i> et <i>fécaux</i> .....	57
1.2.2 Recherche et dénombrement des <i>Streptocoques fécaux</i> .....	58
1.2.3 Recherche et dénombrement des spores <i>Anaérobies sulfito-réducteurs</i> .....	59
1.3 Recherche et dénombrement des <i>Streptomyces</i> .....	59
1.4 Recherche des germes pathogènes.....	60
1.4.1 Recherche et dénombrement des <i>Pseudomonas</i> .....	60
1.4.2 Recherche des <i>Staphylocoques</i> .....	61
1.4.3 Recherche des <i>Entérobactéries</i> .....	61
2. Identification des bactéries isolées.....	61
2.1 Examen microscopique des levures.....	66
2.2 Identifications biochimiques des espèces isolées.....	68
3. Etude de la sensibilité et la résistance des bactéries isolées aux antibiotiques .....	71
Discussion.....	74
Conclusion .....	77

## **Références Bibliographiques**

**Annexes**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Les eaux usées .....	3
<b>Figure 2:</b> Schéma d'une station utilisant les traitements primaires ("plusieurs écrans"), secondaires ("bassin principal") et tertiaires (DNF au niveau du "bioréacteur").....	6
<b>Figure 3:</b> Mécanisme de dégrillage.....	7
<b>Figure 4:</b> Mécanisme de dessablage / dégraissage.....	7
<b>Figure 5:</b> Mécanisme de neutralisation.....	8
<b>Figure 6:</b> Le principe du processus de flottation par air dissous.....	9
<b>Figure 7:</b> Le lit bactérien.....	10
<b>Figure 8:</b> Schéma d'un procédé Disques biologiques .....	10
<b>Figure 9:</b> Principe de fonctionnement des boues activées .....	11
<b>Figure 10:</b> Le lagunage.....	12
<b>Figure 11:</b> Boue d'épuration.....	14
<b>Figure 12:</b> Schéma de différents types de boues selon le procédé de traitement .....	16
<b>Figure 13:</b> Evolution des microorganismes en fonction de l'âge des boues .....	19
<b>Figure 14:</b> Arbre phylogénique des protéobactéries .....	20
<b>Figure 15:</b> Réactions biochimiques simplifiées pour une bactérie déphosphatant Avec AGV : acides gras volatils - PHA : polyhydroxyalcanoate – P-PO <sub>4</sub> : orthophosphate – Nox : Nitrite et/ou nitrate.....	21
<b>Figure 16:</b> Observations microscopiques en contraste de phase d'un agrégat biologique normal (a) et d'un agrégat biologique diffus (b) – Schématisation d'un agrégat biologique normal (c) et diffus (d). .....	23
<b>Figure 17:</b> Représentation schématique d'une filière de traitement des boues.....	25
<b>Figure 18:</b> Recherche des germes totaux .....	32
<b>Figure 19:</b> Lecture du test présomptif (a : Positif. b : Négatif). .....	33
<b>Figure 20:</b> Recherche et dénombrement des coliformes.....	34
<b>Figure 21:</b> La production d'indole par <i>Escherichia coli</i> . .....	35
<b>Figure 22:</b> Recherche et dénombrement des <i>streptocoques</i> .....	37
<b>Figure 23:</b> La recherche des spores de bactéries <i>Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)</i> .....	39
<b>Figure 24:</b> Recherche des <i>Streptomyces</i> .....	40
<b>Figure 25:</b> Protocole de recherche de <i>Staphylococcus</i> .....	42
<b>Figure 26:</b> Recherche des <i>Salmonelles</i> .....	43
<b>Figure 27:</b> Recherche des <i>Vibrio</i> .....	46

<b>Figure 28:</b> Recherche des levures et des moisissures.....	47
<b>Figure 29:</b> Résultat du test catalase (a : Positif. b : Négatif).....	50
<b>Figure 30:</b> Résultat du test oxydase (a : Positif. b : Négatif). ....	50
<b>Figure 31:</b> lecture du test de Simmons.....	51
<b>Figure 32:</b> Galerie API 20E.....	52
<b>Figure 33:</b> Galerie API 20 NE.....	53
<b>Figure 34:</b> Galerie Api Staph .....	54
<b>Figure 35:</b> L'antibiogramme (La diffusion en milieu gélosé). ....	55
<b>Figure 36:</b> Représentation graphique du nombre des germes totaux .....	57
<b>Figure 37:</b> Représentation graphique du <i>Coliforme total et fécal</i> .....	58
<b>Figure 38:</b> Représentation graphique des <i>Streptocoques fécaux</i> .....	58
<b>Figure 39:</b> Résultats de la recherche des <i>Anaérobies sulfito-réducteurs (ASR)</i> .....	59
<b>Figure 40:</b> Résultats de la recherche des <i>Streptomyces</i> .....	60
<b>Figure 41:</b> Présentation graphique de nombre de <i>Pseudomonas</i> .....	60
<b>Figure 42:</b> Résultats de la recherche des <i>Staphylocoques</i> . ....	61
<b>Figure 43:</b> Aspet microscopique de <i>Candida albicans</i> (G× 40) .....	67
<b>Figure 44:</b> Aspet microscopique d' <i>Aspergillus niger</i> (G× 10).....	67
<b>Figure 45:</b> Aspet microscopique de <i>Penicillium</i> (G×40) .....	67
<b>Figure 46:</b> Profil biochimique de l'espèce <i>Staphylococcus heamolyticus</i> .....	68
<b>Figure 47:</b> Profil biochimique de l'espèce <i>Burkholderia cepacia</i> .....	68
<b>Figure 48:</b> Profil biochimique de l'espèce <i>Pseudomonas fluoresens</i> .....	69
<b>Figure 49:</b> Profil biochimique de l'espèce <i>Burkholderia cepacia</i> .....	69
<b>Figure 50:</b> Profil biochimique de l'espèce <i>Chryseobacterium meningoseptica</i> .....	70
<b>Figure 51:</b> Profil biochimique de l'espèce <i>Providencia alcalifaciens/rustigianii</i> .....	70
<b>Figure 52:</b> Profil biochimique de l'espèce <i>Enterobacter cloacae</i> .....	70
<b>Figure 53:</b> Profil biochimique de l'espèce <i>Proteus mirabilis</i> .....	70
<b>Figure 54:</b> <i>Staphylococcus heamolyticus</i> .....	72
<b>Figure 55:</b> <i>Micrococcus spp</i> .....	73
<b>Figure 56:</b> <i>Pseudomonas mendocina</i> .....	73
<b>Figure 57:</b> Résultats d'antibiogramme. ....	73

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau 1:</b> Classification des bactéries filamenteuses .....	22
<b>Tableau 2:</b> Résultats des analyses bactériologiques des boues étudiées. ....	56
<b>Tableau 3:</b> Résultats des observations macroscopiques.....	62
<b>Tableau 4:</b> Observations microscopiques et les tests complémentaires.....	65
<b>Tableau 5:</b> Résultats de l'antibiogramme.....	71

## Liste des abréviations

**API** : Application Programming Interface.

**ASR** : Anaérobie sulfito-réducteur.

**ATP** : Adénosine-Triphosphate.

**BCPL** : Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésole.

**BGN** : Bacille à Gram négatif

**CE** : Conductivité électrique.

**CF** : Coliformes fécaux.

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone.

**CT** : Coliformes totaux.

**DBO<sub>5</sub>** : Demande biologique en oxygène.

**DCO** : Demande chimique en oxygène.

**D/C** : Double concentration.

***E. coli*** : *Escherichia coli*.

**EPA** : Eau peptonée alcaline.

**EPS** : Production de *mousse* de polystyrène.

**Eva Litsky** : Bouillon à l'éthyle violet et aide de sodium.

**FV** : Fraction volatile.

**GELM** : Gélose à l'extrait de levure et de malt.

**GN** : Gélose nutritive.

**GNAB** : Gélose nutritive alcaline biliée.

**GT** : Germes totaux.

**H<sub>2</sub>S** : Hydrogène sulfuré.

**IND** : Indole.

**MES** : Matières en suspension.

**MMS** : Méthyle méthane sulfonate.

**MS** : Matière sèche.

**MVS** : Matière volatile en suspension.

**NPP** : Nombre le plus probable.

**OMS** : Organisation Mondiale de la santé.

**pH** : Le potentiel d'Hydrogène.

**Rothe** : Bouillon à l'azide de sodium.

**SF** : Streptocoques fécaux.

**SFB** : Sérum Foetal Bovin.

**SS** : Salmonella-Shigelles.

**Staph** : Staphylocoque.

**STEP** : Station d'Épuration des Eaux Usées.

**SVI** : Sludge volume index (Indice de boue).

**S/C** : Simple concentration.

**TDA** : Tryptophane désaminase.

**TGEA**: Glucose Tryptone Extrait Agar.

**UFC** : Unité formant colonie.

**UFC/ml** : Unité formant colonie par millilitre.

**UV** : Ultraviolet.

**VF** : Viande Foie.

**VP** : Voges-Proskauer.



# *Introduction*



## **Introduction**

Le développement des activités humaines et l'évolution des modes d'habitat, tant en milieu urbain qu'en milieu rural, se sont accompagnés par des rejets polluants solides, liquides et gazeux, menaçant la santé des hommes, des animaux et des végétaux. Les eaux de surface constituent la source la plus menacée par les activités humaines, elles sont les plus exposées à des pollutions, car ces eaux servent de dépotoirs des déchets divers et sont des collecteurs des eaux usées provenant des agglomérations (**Adjagodo et al., 2017**). Pour cette raison, tous les pays ont déployé des efforts pour résoudre cette problématique. La plupart de ces pays ont installé des stations de traitement des eaux usées (**Raweh et al., 2011**).

Le traitement ou l'épurations des eaux usées a donc pour objectif de réduire la charge en polluants. L'élimination de la pollution organique est essentiellement le fait de procédés d'épuration biologiques basés sur la transformation de la pollution en biomasse appelée boue. Une boue est un écosystème formé en majeure partie par des bactéries, protozoaires et métazoaires où les bactéries s'agglomèrent sous la forme de floccs formés essentiellement par des bactéries filamenteuses. (**Rejsek, 2002**).

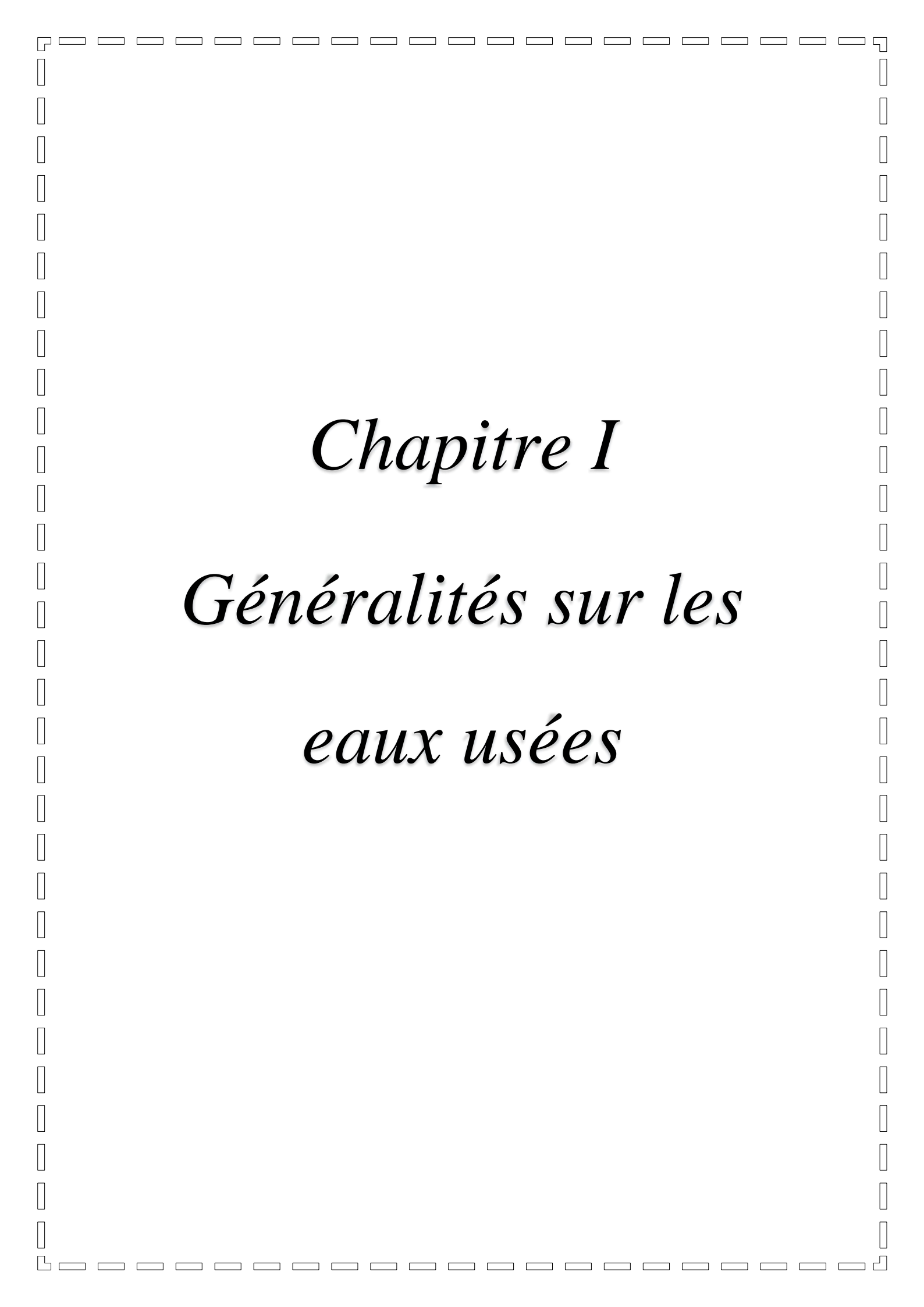
Cependant, les boues d'épuration sont riches en substances chimiques et en micro-organismes dont les effets sont indésirables soit pour la conservation des sols, soit pour la qualité alimentaire des cultures, soit pour la santé de l'homme et des animaux. Elles peuvent également être chargées en divers polluants : éléments traces métalliques, substances organiques. La présence de ces micropolluants, réglementés ou non, dans les boues de stations de traitement des eaux usées pose le problème de leur devenir et de leur impact sur les milieux depuis leur production jusqu'à l'épandage.

Le principal objectif du traitement des boues en station d'épuration est d'en réduire le volume pour limiter les quantités à stocker ou voire à épandre et de les stabiliser pour en améliorer les caractéristiques physiques et arrêter la biodégradation dont elles sont le lieu. En effet, leur forte teneur en eau (99 %) et les fortes populations bactériennes qui s'y retrouvent en font un bouillon de culture favorable à la dégradation de la matière organique fraîche et très fermentescible qu'elles contiennent avec production de mauvaises odeurs.

L'objectif de notre travail consiste à étudier la qualité bactériologique des boues sèches prélevées de la station d'épuration de Guelma STEP, pour un but de rechercher des

microorganismes qui sont susceptibles d'être pathogène et ceux qui sont indicateur de contamination fécale.

Notre travail est structuré en deux parties principales qui englobent en premier une synthèse bibliographique qui présente des généralités sur les eaux usées dans un premier chapitre et les différents traitements des boues dans le deuxième chapitre. Une deuxième partie expérimentale qui présente les différentes méthodes d'analyses microbiologiques utilisées et les principaux résultats obtenus et leur discussion et à la fin une conclusion.



*Chapitre I*

*Généralités sur les*

*eaux usées*

## 1. Définition d'une eau usée

La pollution de l'eau s'entend comme, une modification défavorable ou nocive des propriétés physico-chimiques et biologiques, produite directement ou indirectement par les activités humaines, les rendant impropres à l'utilisation normale établit (**Metahri, 2012**).

Les eaux usées sont des milieux extrêmement complexes, altérées par les activités anthropiques à la suite d'un usage domestique, industriel, artisanal, agricole ou autre. Elles sont considérées comme polluées et doivent être donc traitées avant toute réutilisation ou injection dans les milieux naturels récepteurs (**Selghi, 2001**). **Fig. 1**



**Figure 1:** Les eaux usées [1]

## 2. Origine des eaux usées

Suivant l'origine et la qualité des substances polluantes, on distingue quatre catégories d'eaux usées :

### 2.1 Origine domestique

Elles proviennent des différents usages domestiques de l'eau, elles sont constituées des déchets humains, des eaux ménagères de vaisselle. (**Metahri, 2012**)

### 2.2 Origine agricole

Les eaux d'origine agricoles sont constituées essentiellement des eaux de drainage, des champs agricoles et des rejets de lavage des fermes d'élevage. Néanmoins, ces eaux sont parfois caractérisées par de fortes concentrations de pesticides et d'engrais artificiels (**Grosclaude, 1999**).

### 2.3 Origine industrielle

Elles contiennent des composés organiques de nature différentes (**Hassine, 2004**). En plus, des substances toxiques telles que : l'Arsenic, des métaux lourds... (**Gaid, 1984**).

### 2.4 Origine pluviale

L'eau de pluie est une source d'eau relativement propre, mais elle peut être contaminée par des polluants atmosphériques, poussières, détritiques. (**Rahman et al., 2019**)

## 3. Caractéristiques des eaux usées

Les normes de rejet des eaux usées, fixent des indicateurs de qualité physico-chimique et biologique. Certains de ces paramètres sont indicateurs de modifications que cette eau sera susceptible d'apporter aux milieux naturels récepteurs, (**Metahri, 2012**). On peut retenir les analyses suivantes :

### 3.1 Les paramètres physicochimiques

Ils résultent de l'introduction dans un milieu des substances conduisant à son altération, se traduisant généralement par des modifications des caractéristiques physicochimiques du milieu récepteur. La mesure de ces paramètres se fait au niveau des rejets, à l'entrée et à la sortie des usines de traitement et dans les milieux naturels. (**Metahri, 2012**)

#### 3.1.1 La température

La température est un facteur écologique important des milieux aqueux, Elle joue un rôle dans la nitrification et la dénitrification biologique. La nitrification est optimale pour des températures variant de 28 à 32°C par contre, elle est fortement diminuée pour des températures de 12 à 15°C et elle s'arrête pour des températures inférieures à 5°C (**Bollags, 1973 ; Rodier et al., 2005**).

#### 3.1.2 Le potentiel d'Hydrogène (pH)

L'influence du pH se fait ressentir par le rôle qu'il exerce sur les autres éléments comme les ions des métaux dont il peut diminuer ou augmenter leur mobilité en solution biodisponible et donc leur toxicité. Le pH joue un rôle important dans l'épuration d'un effluent et le développement bactérien. (**Metahri, 2012**)

#### 3.1.3 La turbidité

La turbidité est inversement proportionnelle à la transparence de l'eau, elle est de loin le paramètre de pollution indiquant la présence de la matière organique ou minérale sous forme colloïdale en suspension dans les eaux usées. Elle varie suivant les matières en suspension (MES) présentes dans l'eau. (**Metahri, 2012**)

### 3.1.4 Les matières en suspension (MES)

Elles représentent, la fraction constituée par l'ensemble des particules, organiques (MVS) ou minérales (MMS), non dissoutes de la pollution. En fonction de la taille des particules, on distingue les matières grossières ou décantables (diamètre supérieur à 100  $\mu\text{m}$ ) et les matières en suspension. On peut également prendre en compte une partie des matières colloïdales, de dimension inférieure, qui constitue la limite entre la phase solide et la phase dissoute (entre 1 et  $10^{-2}$   $\mu\text{m}$ ) (Rejsek, 2002).

### 3.1.5 La conductivité électrique (CE)

La conductivité est la propriété que possède une eau à favoriser le passage d'un courant électrique. Elle fournit une indication précise sur la teneur en sels dissous (salinité de l'eau). (Metahri, 2012). La mesure de la conductivité permet d'évaluer la minéralisation globale de l'eau (Rejsek, 2002).

### 3.1.6 La demande biochimique en oxygène (DBO5)

La DBO5 comme étant la quantité d'oxygène consommée par les bactéries, à 20°C à l'obscurité et pendant 5 jours d'incubation d'un échantillon préalablementensemencé, temps qui assure l'oxydation biologique d'une fraction de matière organique carbonée. Ce paramètre mesure la quantité d'oxygène nécessaire à la destruction des matières organiques grâce aux phénomènes d'oxydation par voie aérobie. (Metahri, 2012)

### 3.1.7 La demande chimique en oxygène (DCO)

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

### 3.1.8 La biodégradabilité

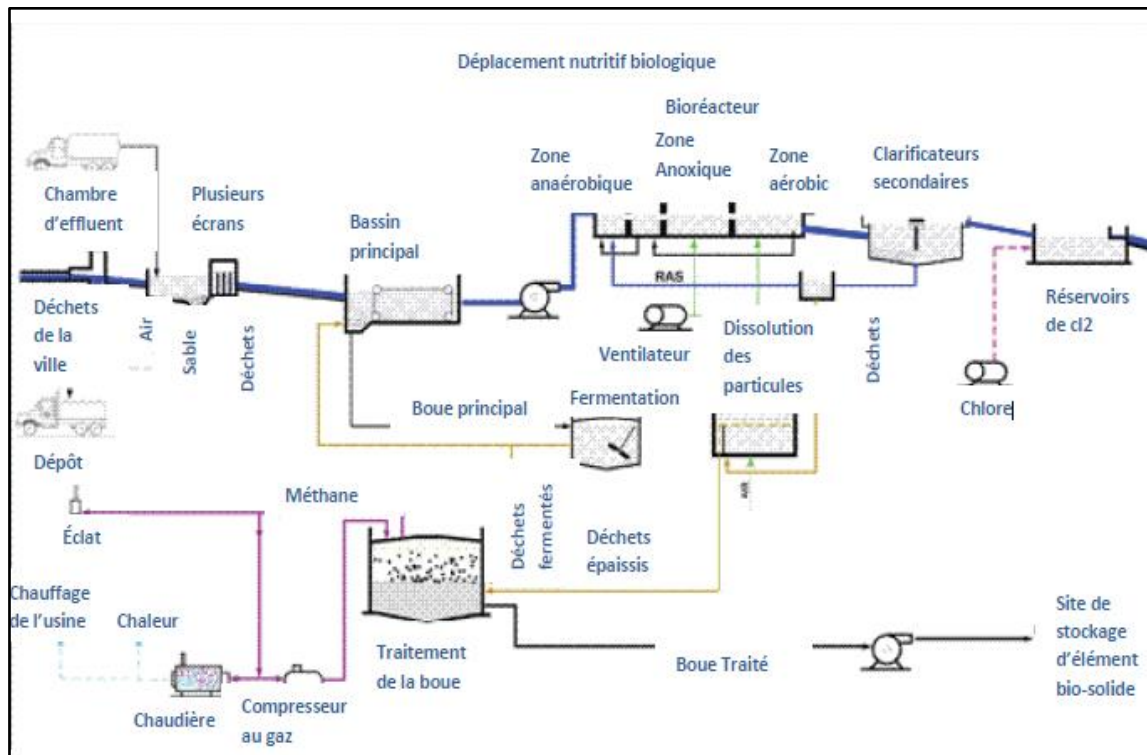
La biodégradabilité traduit l'aptitude d'un effluent à être décomposé ou oxydé par les micro-organismes qui interviennent dans le processus d'épuration biologique des eaux. La biodégradabilité est exprimée par un coefficient K, tel que,  $K = \text{DCO} / \text{DBO5}$ .

## 4. Les filières de traitements des eaux usées

Une station d'épuration est une installation qui permet la dépollution et le traitement des eaux usées avant d'être rejetées dans le milieu naturel (Aussel *et al.*, 2004). Fig. 2

Elle comporte trois étapes :

- **La chaîne de traitement de l'eau** : Elle regroupe plusieurs procédés qui dépolluent l'eau usée.
- **La chaîne de traitement des boues** : Elle conditionne les boues pour essentiellement réduire leur teneur en eau, en vue de leur valorisation éventuelle.
- **Les procédés annexes** : Ce sont les procédés qui ne traitent ni l'eau, ni les boues mais qui valorisent une qualité de service à l'usine d'épuration (**Renou, 2006**).



**Figure 2:** Schéma d'une station utilisant les traitements primaires ("plusieurs écrans"), secondaires ("bassin principal") et tertiaires (DNF au niveau du "bioréacteur"). [2]

#### 4.1 Prétraitement

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

##### 4.1.1 Dégrillage

C'est une opération indispensable qui permet d'éviter le bouchage des différentes installations (pompes, conduites). Elle est assurée par le passage des eaux usées à travers des grilles qui retiennent les éléments solides volumineux (papiers, feuille, objets divers) (**Aussel et al., 2004**).

**Fig. 3**



**Figure 3:** Mécanisme de dégrillage. [3]

#### 4.1.2 Le dessablage

Consiste à débarrasser les eaux des solides de taille supérieure à 200  $\mu\text{m}$  (sables, graviers, matières minérales lourdes) par décantation sous l'effet de la gravité (Altmeyer *et al.*, 1990).

#### 4.1.3 Le déshuilage (dégraissage)

Une opération qui consiste à éliminer les huiles et les graisses qui flottent à la surface. La remontée de ces matières est assurée par l'injection de fines bulles d'air à l'intérieur du bassin (Altmeyer *et al.*, 1990) Fig.4



**Figure 4:** Mécanisme de dessablage / dégraissage. [4]



#### 4.1.4 La neutralisation

Elle consiste à ajuster le pH entre 7 et 8, à l'aide de réactifs appropriés (acides, bases...) (Altmeyer, 1990) Fig. 5



Figure 5: Mécanisme de neutralisation. [5]

#### 4.2 Le traitement primaire (décantation - flottation)

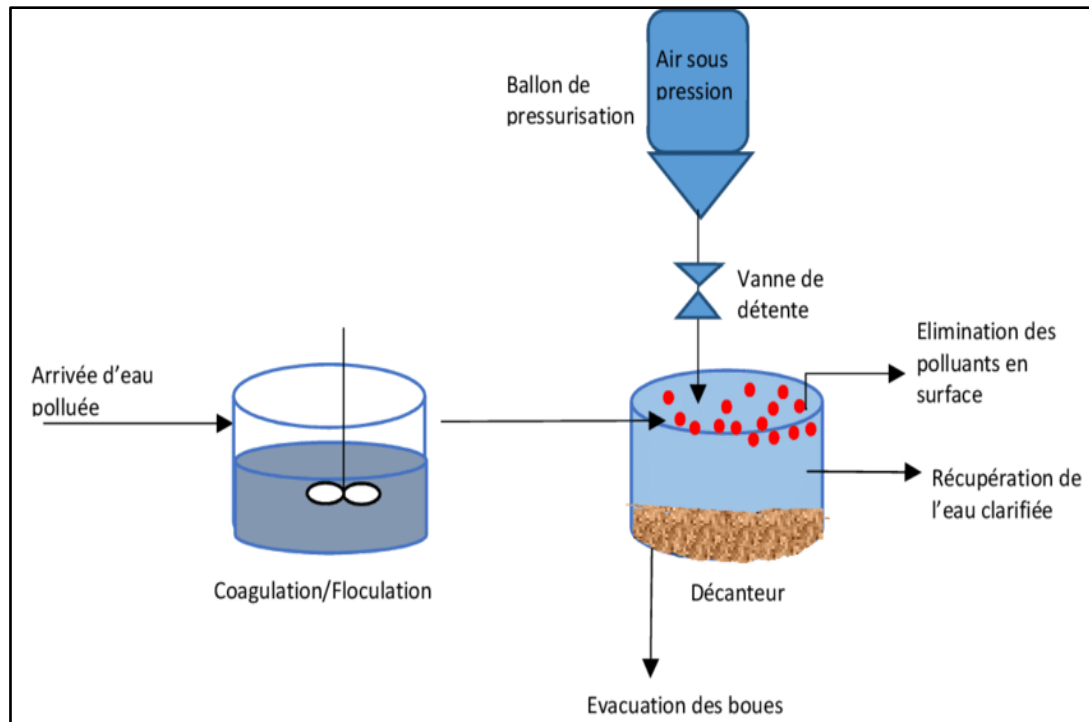
Le traitement primaire élimine plus de la moitié des matières en suspension et constitue une pré-épuration non négligeable quoique insuffisante pour garantir la qualité du rejet en milieu naturel. Il fait appel à différents procédés physiques et / ou chimiques. Les matières décantable se déposent au fond ou flottent à la surface par différence de densité ou après adjonction de produits agglomérant les matières et accélérant leur flottation ou leur sédimentation (Daloz, 2007).

##### 4.2.1 La décantation primaire classique

Il s'agit essentiellement d'un processus physique qui permet sous l'effet de la pesanteur de séparer des éléments liquides et des éléments solides. Ces derniers se déposent au fond d'un bassin pour former les « boues primaires » (Marcel, 2012).

### 4.2.2 La flottation (processus physique)

Par opposition à la décantation, la flottation est un procédé de séparation solide-liquide ou liquide-liquide qui s'applique à des particules dont la masse volumique réelle ou apparente (flottation assistée) est inférieure à celle du liquide qui les contient (Cindy, 2007) Fig. 6



**Figure 6:** Le principe du processus de flottation par air dissous. [6]

### 4.3 Le traitement biologique (traitement secondaire)

Ces traitements permettent d'éliminer les polluants dissous. Pour cela on utilise des populations de micro-organismes capables de les consommer. Dans les cas étudiés, le principe général est de favoriser la croissance de communautés de bactéries aérobies, c'est-à-dire qui prélève l' $O_2$  pour leur métabolisme (Madigan, 2007). On en distingue différents types :

#### 4.3.1 Les lits bactériens (culture fixe)

Le principe du lit bactérien, appelé également filtre bactérien (filtre percolateur), consiste à faire ruisseler une eau qui a subi une étape de décantation, sur une surface spécifique (des matériaux inertes de 3 à 7 cm : coke, scoris mâchefer cailloutis, morceaux de boriques) servant de support aux micro-organismes épurateurs. Les supports se recouvrent généralement après quelques semaines par des pellicules membraneuses très riches en colonies microbiennes qui vont au fur et à mesure digérer les agents pathogènes et assurer une épuration des eaux usées (Bouziari, 2000) Fig. 7

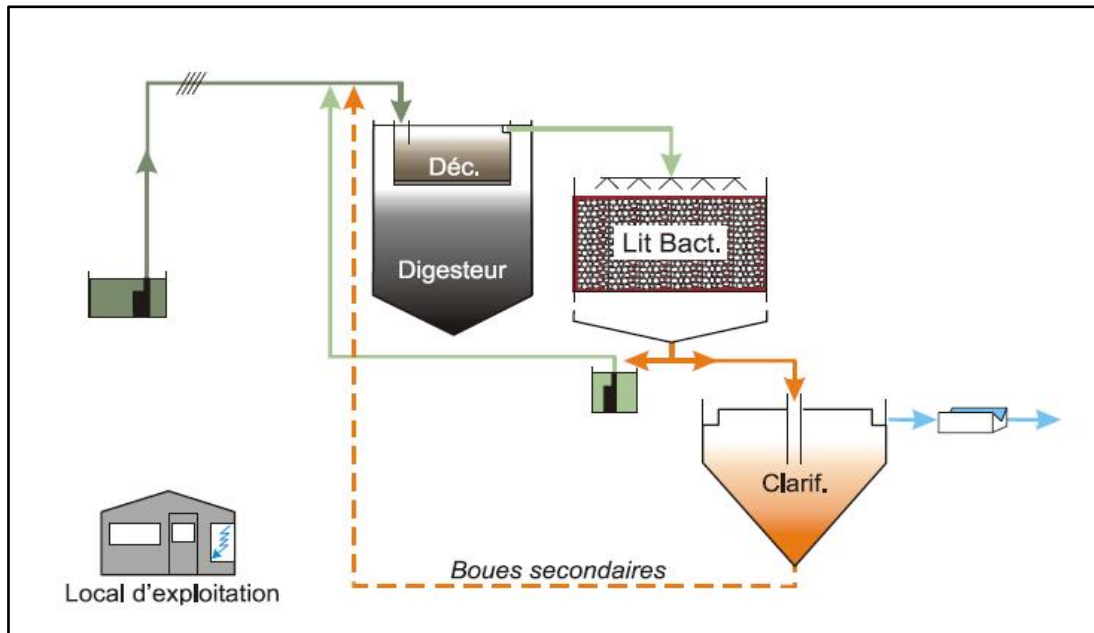


Figure 7: Le lit bactérien. [7]

#### 4.3.2 Les bio-disques (culture fixe)

Biomasse fixée sur des disques tournants au sein du mélange à traiter, coûts de fonctionnement faibles, efficace à faible charge uniquement, sensible aux conditions climatiques (lessivage du bio-film par la pluie) (Cindy, 2007) Fig.8

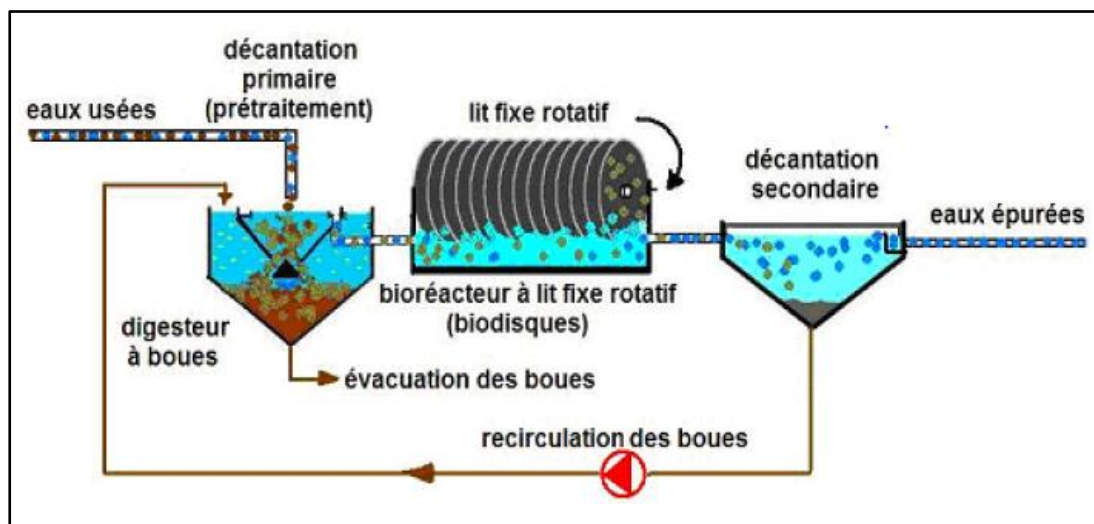
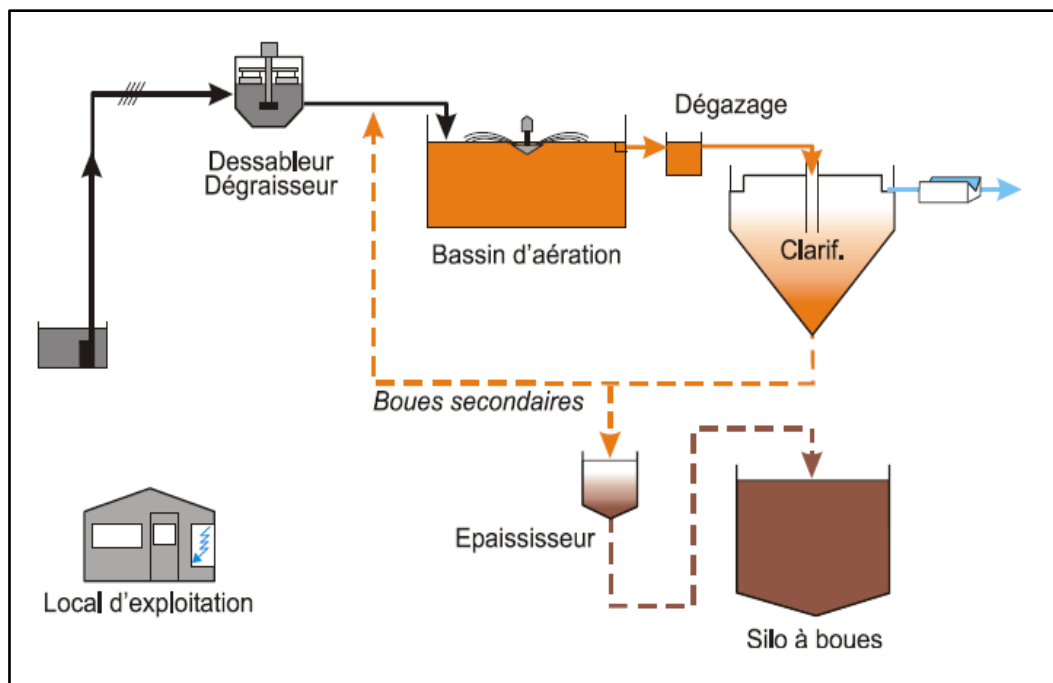


Figure 8: Schéma d'un procédé Disques biologiques (Telli, 2013).

### 4.3.3 Les boues activées (culture libre)

Dans ces procédés, les bactéries se développent dans des bassins alimentés d'une part en eaux usées à traiter et d'autre part en oxygène par des apports d'air. 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 (**Edeline, 1997**) **Fig.9**

Après ce traitement les eaux sont à nouveau décantées une partie des boues est renvoyée dans les bassins d'activation pour maintenir la population des microorganismes intervenant dans l'épuration, le reste des boues, appelé boues en excès, est soutiré pour subir un traitement on peut prolonger le temps d'aération de façon à obtenir une minéralisation plus forte des boues. C'est le procédé le plus utilisé (**Derouiche, 2012**).



**Figure 9:** Principe de fonctionnement des boues activées.[8]

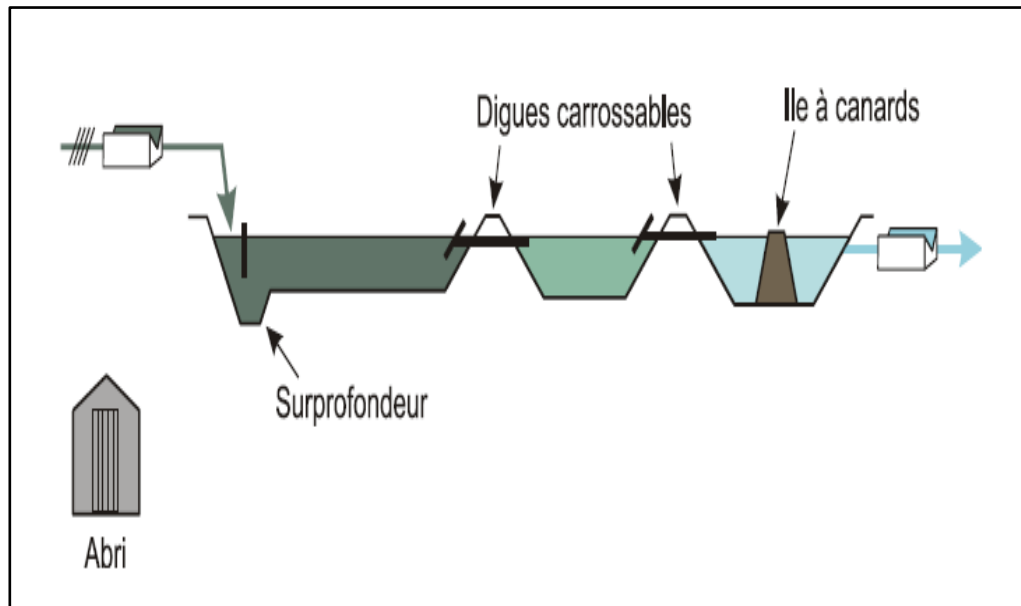
### 4.3.4 Le lagunage (culture libre)

Le traitement des eaux usées par les procédés de lagunage se caractérise d'abord par sa grande simplicité. Une autre caractéristique importante est son grand pouvoir tampon face aux variations de charges organiques ou hydrauliques, en raison du temps de rétention hydraulique qui est beaucoup plus élevé que dans les autres procédés (**Bouziati, 2000**) **Fig. 10**

Il existe plusieurs types de procédés par lagunage. Ces procédés peuvent être :

- Aérés mécaniquement ou non ;

- Aérobie, anaérobie ou facultatif (zones aérobie et zones anaérobie) ; à décharge continue, à vidange périodique ou à rétention complète.



**Figure 10:** Le lagunage. [9]

#### 4.4 Traitement tertiaire

Ces traitements sont à la fois physico-chimiques et biologiques. On les réalise après les traitements primaires et secondaires afin d'éliminer des éléments nutritifs résiduels, des polluants organiques résistants, des métaux et des pigments. Par exemple, on peut utiliser des traitements biologiques avancés pour éliminer le phosphore par le Déplacement Nutritif Biologique (DNF). On fait passer l'eau par différents réservoirs avec des bactéries et dans des conditions environnementales différentes (différence de concentration en dioxygène par exemple). On récupère ensuite les boues lors d'un nouveau passage dans un clarificateur.

Un autre type de traitement que l'on pourrait classer comme tertiaire est le traitement aux UV. On dénature alors des molécules, comme les œstrogènes, sensibles à ces rayons (Moulin *et al.*, 2013).

##### 4.4.1 La désinfection par chloration

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

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

#### **4.4.2 La désodorisation**

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

#### **4.4.3 La déphosphorylation**

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

# *Chapitre II*

## *Traitement des boues*

## 1. Généralités

Les eaux usées sont collectées puis acheminées vers les stations d'épuration où elles sont traitées. En fin de traitement, à la sortie de la station, l'eau épurée est rejetée vers le milieu naturel et il reste les sédiments des boues résiduaire qui sont composées d'eau et de matières sèches contenant des substances minérales et organiques. Les boues produites par les stations d'épuration sont considérées comme des déchets. Elles doivent par conséquent être éliminées en respectant les nouvelles contraintes réglementaires, environnementales, sanitaires et économiques. Ces contraintes obligent à rationaliser le traitement de ces boues. (Laville, 2001)

## 2. Définition des boues d'épuration

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. (Ademe, 2001)

Les boues d'épuration (urbaines ou industrielles) sont les principaux déchets produits par une station d'épuration à partir des effluents liquides. Ces sédiments résiduaire sont surtout constitués de bactéries mortes et de matière organique minéralisée. Une installation moyenne produit environ un excès de 40 g de matière sèche par jour et par habitant. Les boues peuvent être considérées comme étant des déchets dangereux ou des déchets non dangereux selon leurs caractéristiques physico-chimiques. **Fig. 11**



**Figure 11:** Boue d'épuration [10]



### 3. Les différents types de boue

La nature des boues produites par une station d'épuration dépend de plusieurs facteurs : tel le type de séparation de boue utilisé, le procédé de traitement qui est fonction de la taille du système de traitement des effluents et de leur caractéristique d'origine.

#### 3.1 Selon l'origine

##### 3.1.1 Les boues industrielles

C'est l'ensemble de déchets liquides, pâteux ou solides sortant du site de production. (Salhi, 2003) Fig. 12

##### 3.1.2 Les boues primaires

Obtenues par simple décantation d'un résidu insoluble. Ces boues correspondent à la pollution particulaire directement décantable. Elles sont produites par les industries de la cellulose, les industries de traitement des métaux, des minerais, les industries agroalimentaires générant des déchets fibreux. (Ademe, 1999)

Elles sont d'aspect grisâtre, d'odeur fétide, très fermentescible et très contaminées bactériologiquement. (Rejsek, 2002)

##### 3.1.3 Les boues biologiques ou secondaires

Sont issues d'un bassin aéré ou d'une cuve anaérobie ; des industries chimiques et pharmaceutiques, agroalimentaires (laiteries, boissons...), textiles et, plus généralement, de toute industrie rejetant de la pollution organique biodégradable. Elles sont essentiellement constituées de bactéries et sont très organiques et peu concentrées. (Murillo, 2004)

##### 3.1.4 Les boues physico-chimiques

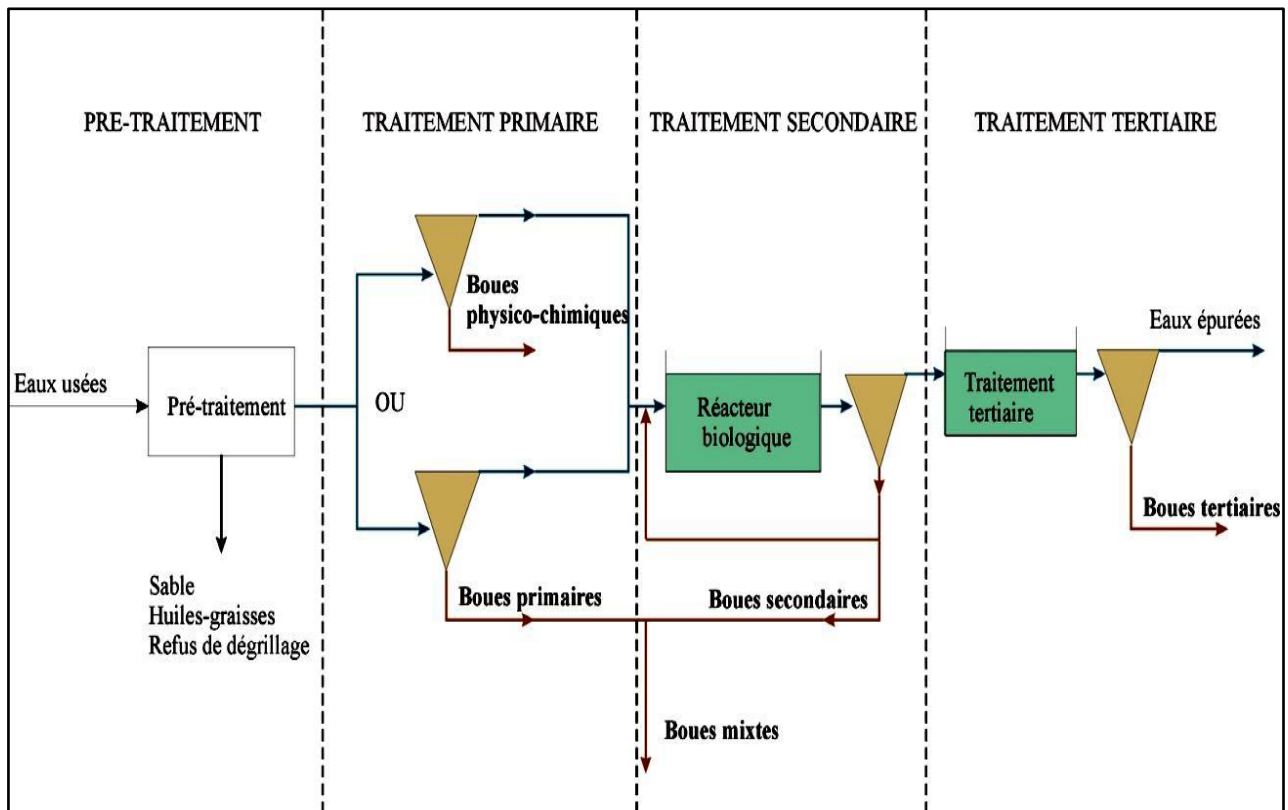
Sont générées par l'ajout d'un réactif injecté soit en tête de traitement, soit en traitement de finition, en tertiaire, on retrouve souvent dans ces boues des hydroxydes, voire d'autres métaux dans le cas des industries de traitement de surface. Ces boues peuvent donc présenter certaines similitudes avec des boues d'eau potable. (Ademe, 2001)

##### 3.1.5 Les boues mixtes

C'est le mélange des boues biologiques et des boues primaires. Elles existent au niveau des STEP (station de traitement des eaux polluées) dotées d'une filière de traitement complète. (Albrecht, 2007)

##### 3.1.6 Les boues d'aération prolongée

Ces boues existent au niveau des STEP sans décantation primaire. Elles sont moins organiques et donc produisent moins de nuisances ultérieures. (ONA, 2004)



**Figure 12:** Schéma de différents types de boues selon le procédé de traitement (Canler, 2013).

### 3.2 Selon l'état physique

#### 3.2.1 Boues liquides

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

#### 3.2.2 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. (Berland, 2001)

#### 3.2.3 Boues solides chaulées

Résultent soit de boues pâteuses traitées à la chaux (siccité 30%MS), soit de boues liquides épaissies traitées à la chaux et déshydratées mécaniquement (siccité 40%MS). Elles sont produites par des stations de taille moyenne ou de grande taille.

Les boues solides chaulées se stockent, se manipulent et s'épandent facilement. Par ailleurs, elles présentent beaucoup moins de problèmes d'odeurs que les boues liquides et les boues pâteuses non chaulées. **(Berland, 2001)**

### 3.2.4 Boues solides compostées

Sont issues du mélange de boues pâteuses avec un support ligno-cellulosique structurant (déchets d'espaces verts, copeaux...).

Les boues solides compostées sont plus faciles à stocker que les boues solides chaulées. Elles s'épandent aussi facilement et sont pratiquement sans odeur. **(Berland, 2001)**

## 4. Caractéristiques des boues

### 4.1 Caractéristiques physico-chimiques

#### 4.1.1 Matière sèche (MS) et siccité (S)

C'est le paramètre principal de la définition de filière et surtout un des plus faciles à mesurer. La matière sèche (MS) est exprimée en g/L. Rapporté à la masse totale de boue, on l'exprimera en fraction massique S qui correspond à la siccité. Il permet de connaître la quantité de boue à traiter, quel que soit son niveau de concentration dans la filière de traitement. **(Lachassagne, 2014)**

#### 4.1.2 Matières en suspension

Si les matières sèche sont faciles à déterminer sur les phases concentrées, il n'en va pas de même sur les phases clarifiées où la procédure de mesure de MES par filtration sur membrane est plus appropriée. Afin d'écrire un bilan matière rigoureux soit en MS, soit en MES sur une opération de séparation de phase (qui ne sépare que les MES), on reliera les deux paramètres par la relation expérimentale suivante :

$MES = MS - [\text{substances organiques et minérales dissoutes}]$  **(Lachassagne, 2014)**

#### 4.1.3 Fraction volatile FV (en % des MS)

C'est le rapport des matières volatiles MV (en g/L) sur les matières sèches MS (en g/L). Elle donne une précieuse indication sur le degré de stabilisation de la boue, et son aptitude à divers traitements (déshydratation, incinération...). **(Dudkowski, 2000)**

#### 4.1.4 Indice de boue SVI (Sludge Volume Index)

Il caractérise l'aptitude à la décantation, et donc ultérieurement à l'épaississement puis à la déshydratation d'une boue issue d'un traitement biologique. Il est à relier indirectement aux MS et MV. (Amadou, 2007)

### 4.2 Caractéristiques biologiques

#### 4.2.1 Composition des matières organiques

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

$C_5H_7O_2N$  est souvent pris comme « formule brute » d'une boue biologique. (Echab, 1998)

#### 4.2.2 Composition des matières minérales

Silice, alumines, carbonates et phosphates constituent les éléments les plus couramment rencontrés, à l'exception des boues minérales d'industries spécifiques. Carbonates et phosphates ont ainsi leur importance pour préciser la qualité agricole d'une boue épandue ; la silice est un élément défavorable en centrifugation.

Par ailleurs les chlorures, essentiellement solubles, sont peu appréciés en cas d'utilisation des cendres de boues incinérées en valorisation dans le béton. (Tauzin, 1986 ; Benoît *et al.*, 2014)

#### 4.2.3 Les Micropolluants

Ils doivent être caractérisés en cas d'épandage agricole comme en cas d'incinération, car ils peuvent alors se retrouver dans les fumées. Les législations se sont longtemps tenues aux seuls micropolluants minéraux en limitant les rejets des métaux lourds suivants : plomb, chrome, cuivre, manganèse, nickel, arsenic, cadmium et mercure. (Suh, 2002)

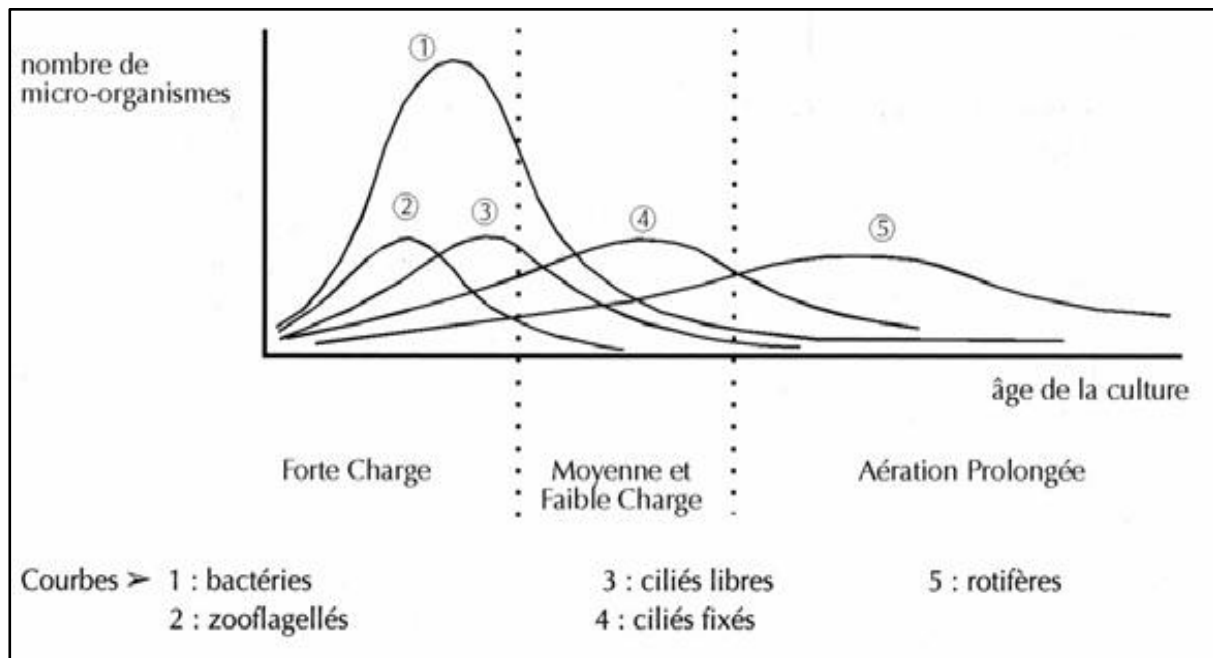
#### 4.2.4 Les microorganismes et la microfaune des boues activées

L'observation rapide et simple par microscopie optique permet d'identifier les protozoaires, métazoaires et bactéries filamenteuses de morphologies particulières. Les bactéries filamenteuses des boues activées recouvrent une grande diversité de genres bactériens qu'il est nécessaire de pouvoir distinguer. (Pandolfi, 2006)

#### 4.2.4.1 La microfaune

Elle représente une quantité de cellules de l'ordre de  $10^5$  à  $10^7$  individus par litre de boues activées. Cette microfaune joue un rôle de prédateur des bactéries isolées et des bactéries mortes et ainsi participe à la clarification des effluents (**Pandolfi, 2006**) **Fig. 13**. Selon l'organisation cellulaire des microorganismes, on distingue deux familles principales :

- Les protozoaires
- Les métazoaires.



**Figure 13:** Evolution des microorganismes en fonction de l'âge des boues (**Canler et al, 1999**)

#### 4.2.4.2 Les principales communautés bactériennes des stations d'épurations

L'examen microscopique des boues montre qu'il s'agit d'un milieu hautement complexe où se rencontre un grand nombre de bactéries libres, filamenteuses ou flocculées. Cette microflore représente  $10^{11}$  à  $10^{12}$  bactéries par litres de boues activées (*Pseudomonas, Micrococcus, Flavobacterium...*). (**Pandolfi, 2006**)

##### a. Les microorganismes responsables de l'élimination de l'azote

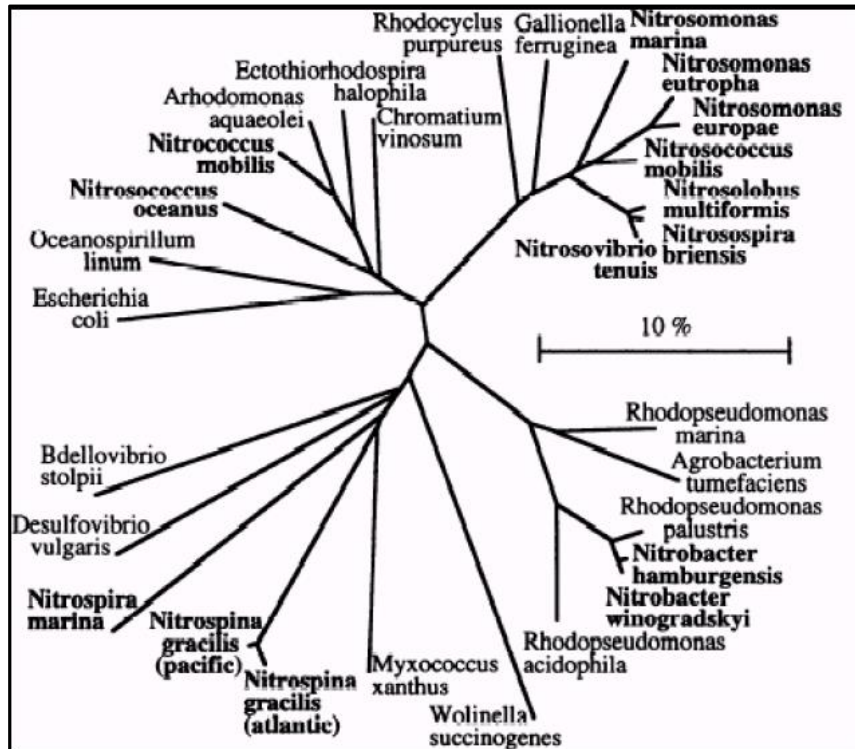
###### ✓ Au cours de la nitrification

Les approches moléculaires et plus particulièrement le séquençage des acides nucléiques ont permis d'établir les caractéristiques phylogénétiques de ces bactéries. Les bactéries nitrifiantes se répartissent en deux groupes :

- Un groupe oxydant l'ammonium en nitrites : les bactéries nitritantes
- Un groupe oxydant les nitrites en nitrates : les bactéries nitratantes

Parmi les deux groupes de microorganismes, on trouve :

- Chez les nitritantes : *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* et *Nitrosovibrio*. **Fig. 14**
- Chez les nitratantes : *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*.



**Figure 14:** Arbre phylogénique des protéobactéries (Pandolfi, 2006)

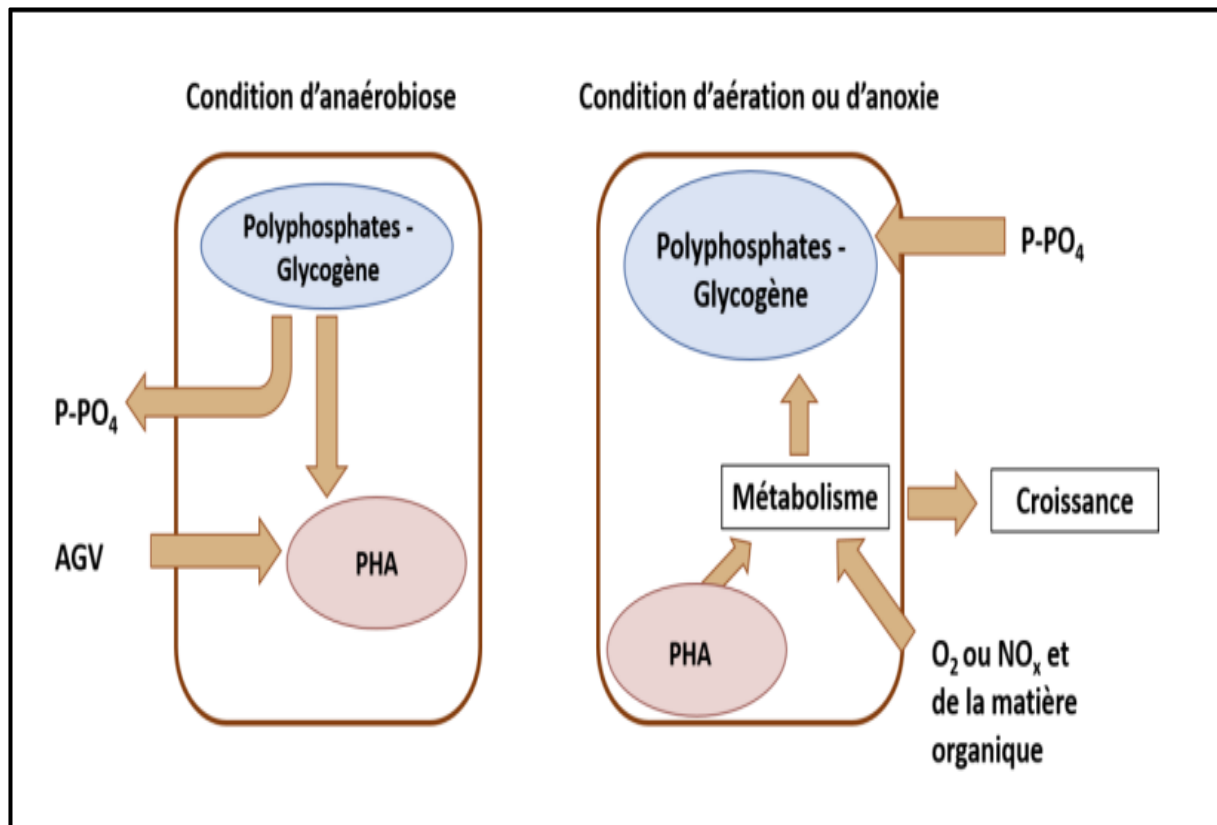
#### ✓ Au cours de la dénitrification

Au cours de la dénitrification l'ion  $\text{NO}_3^-$  est l'accepteur final d'électrons au niveau de la chaîne de respiration. Les principales bactéries concernées sont : *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Thiobacillus* et *Pseudomonas* (Pandolfi, 2006). Elles sont hétérotrophes et présentent une vitesse de croissance élevée.

#### b. Les microorganismes responsables de l'élimination du phosphore

Les bactéries impliquées dans la déphosphatation sont répertoriées dans la littérature en deux grandes familles. **Fig. 15**

Les principales bactéries appartenant au groupe des PAO sont : *Acinetobacter spp*,  $\beta$ -*Proteobacteria*, *Actinobacteria* et *Rhodocyclus*. (Seviour *et al.*, 2003)



**Figure 15:** Réactions biochimiques simplifiées pour une bactérie déphosphatante Avec AGV : acides gras volatils - PHA : polyhydroxyalcanoate – P-PO<sub>4</sub> : orthophosphate – No<sub>x</sub> : Nitrite et/ou nitrate. (Durban, 2015)

### c. Les bactéries filamenteuses



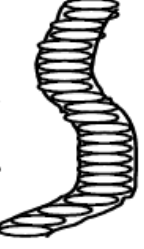




Les bactéries filamenteuses jouent un rôle important dans la formation des structures flocculées des boues en les rendant plus résistantes à la prédation et aux perturbations hydrodynamiques (Parker *et al.*, 1971). Cependant, lorsque leur densité est trop importante, la densité apparente des agrégats peut être diminuée, entraînant des dysfonctionnements biologiques plus amplement.

#### ✓ Classification

Eikelboom (1975) a observé un grand nombre de bactéries filamenteuses (26 espèces) dans différentes stations d'épuration, et a bâti une classification comprenant sept groupes **Tab. 1.**

Cette classification est basée d'une part sur la morphologie des filaments (vraies ou fausses ramifications, filaments mobiles, coloration de Gram...) et d'autre part sur l'absence ou la présence d'inclusions cellulaires (granules de polyphosphates, de poly-β- hydroxybutyrate et de soufre).

**Tableau 1:** Classification des bactéries filamenteuses (Pandolfi, 2006)

CLASSIFICATION D'EIKELBOOM (1975)						
Type 1	Type 2	Type 3	Type 4	Type 5	Type 6	Type 7
						
Gram – Gaine	Gram+ Gaine épiphytes	Cellules discoides	Cellules non visibles, filament Contourné	Filament droit ou peu contourné	Filament mobile	Divers
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Sphaerotilus Type 1701 Type 0321	Type 0041 Type 0675 Type 1851	Type 021 N Nostocoida limicola Cyanophycée	Microthrix Type 0581 Type 0192	Type 0803 Type 0092 Type 0861	Beggiatoa Type 0814	Type 1863 Nocardia Type 0411
<b>Espèces caractéristiques du type</b>						

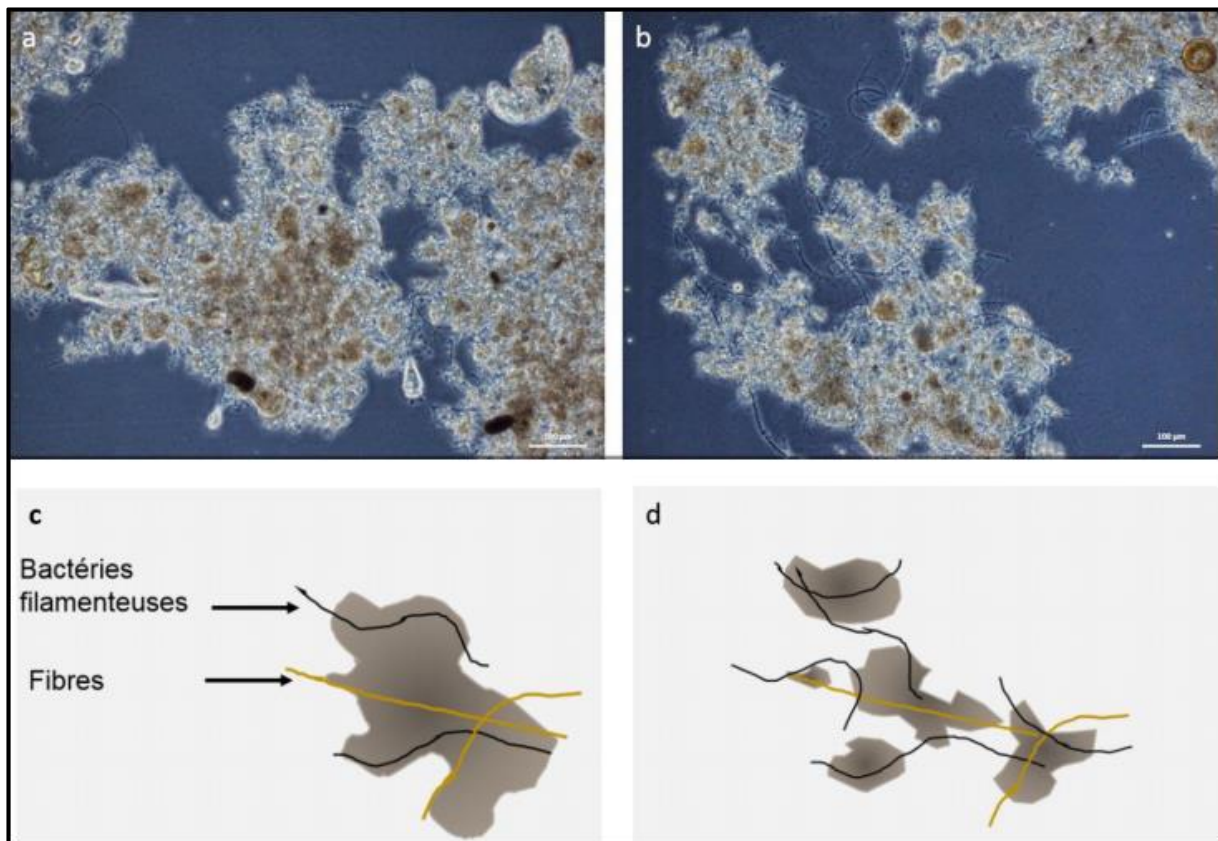
✓ **Les dysfonctionnements dus aux bactéries filamenteuses**

Les principaux dysfonctionnements dus aux bactéries filamenteuses sur station se manifestent sous deux formes :

- **Le foisonnement des boues**

Le foisonnement des boues est le phénomène le plus souvent à l'origine des problèmes de décantation (Tandoi *et al.*, 2006). La décantation des boues est altérée par la présence importante de bactéries filamenteuses qui entraînent l'ouverture de la structure des agrégats biologiques et/ou la création de pontages inter-flocs. La morphologie d'un floc normal observée en microscopie (contraste de phase) est représentée sur la **Figure 16.a** et celle d'un agrégat dit diffus – en présence de bactéries filamenteuses sur la **Figure 16.b**. Pour une meilleure compréhension des phénomènes, une représentation schématisée est également donnée sur la **Figure 16.c** pour un agrégat dit normal et pour un floc diffus sur la **Figure 16.d**.





**Figure 16:** Observations microscopiques en contraste de phase d'un agrégat biologique normal (a) et d'un agrégat biologique diffus (b) – Schématisation d'un agrégat biologique normal (c) et diffus (d). (Durban, 2015)

L'altération de la morphologie des agrégats peut entraîner des pertes de boues au niveau du décanteur secondaire et un non-respect des niveaux de rejet, des difficultés à maintenir des concentrations stables en biomasse dans l'installation ainsi que des difficultés pour la déshydratation des boues (Tandoi *et al.*, 2006). L'impact des bactéries filamenteuses sur la morphologie des floccs peut différer suivant les espèces impliquées. *M. parvicella* ou Type 0092 provoquent l'ouverture du flocc tandis que *Thiothrix* sp. forme des pontages entre les agrégats. Certaines bactéries peuvent entraîner ces deux phénomènes comme Type 0041/0675. (Jenkins *et al.*, 2004)

#### - Le moussage biologique

Ce type de dysfonctionnement se caractérise par la présence d'une couche de mousses stables et denses en surface des bassins ainsi que par la présence de flottants au niveau du clarificateur. Il résulte de la stabilisation entre trois éléments : l'air, l'eau et les cellules bactériennes. Le moussage peut être causé par la production excessive d'EPS (lipides, protéines ou carbohydrates), par la présence de composés tensio-actifs dans les eaux usées ou par la

prolifération excessive de bactéries filamenteuses dont les parois sont très hydrophobes. Les bactéries hydrophobes, et éventuellement les agrégats auxquels elles sont liées, ont tendance à être entraînées à la surface des bassins sous l'action de l'aération. De par leur caractère hydrophobe, *M. parvicella* et *Mycolata* sont les bactéries filamenteuses le plus souvent à l'origine de ce type de dysfonctionnement (Jenkins *et al.*, 2004). L'accumulation de biomasse dans les mousses entraîne des difficultés à maintenir stable la concentration en matières en suspension (MES) dans l'installation et à contrôler l'âge de boues (Tandoi *et al.*, 2006). Des flottants en surface des clarificateurs peuvent être induits par des phénomènes de dégazage en présence de réactions de dénitrification ou en l'absence de dégazeur en amont du clarificateur.

#### 4.2.4.3 Les substances de réserve chez les microorganismes des boues

La majeure partie des microorganismes filamenteux ou non filamenteux des boues activées possède des polymères de stockage comme les PHA (poly- $\beta$ -hydroxyalkanoate), les PHB (Poly- $\beta$ -hydroxybutyrate), le glycogène, ou les polyphosphates.

##### a. Les poly- $\beta$ - hydroxyalkanoates

Les poly- $\beta$ -hydroxyalkanoates sont des granules intracellulaires présents chez les procaryotes dont la taille peut varier de 0,2 à 0,5  $\mu\text{m}$ . Ils constituent les réserves en carbone et en énergie. Les polymères de ce type sont en général des chaînes linéaires de longueur variable qui sont enfermées dans des granules. (Dawes *et al.*, 1973)

##### b. Les polyphosphates

Les granules de polyphosphates stockés chez les bactéries de type PAO, sont appelées « Granules de volutine », car elles ont été trouvées pour la première fois chez *Spirillum volutans*. Les polyphosphates sont des polymères linéaires composés de monomères d'orthophosphates.

##### c. Le glycogène

Le glycogène est un polymère composé de monomères de glucose reliés par des liaisons  $\alpha$  (1-4) et  $\alpha$  (1-6). En condition anaérobie, le glycogène est consommé afin de convertir les acides gras en phosphates.

## 5. Le traitement des boues

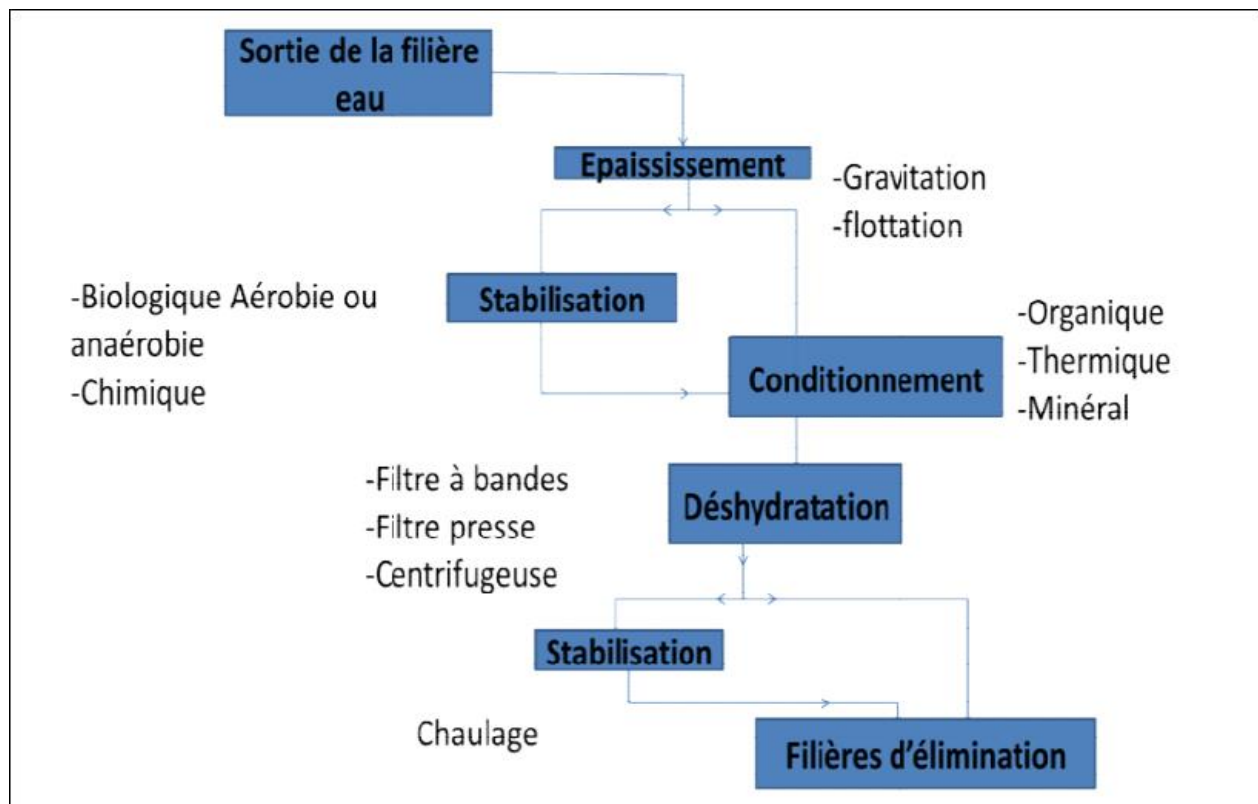
Le traitement des boues est défini comme l'ensemble des opérations visant à modifier les caractéristiques des boues en excès afin de rendre leur destination finale fiable et sans nuisance. Les boues subissent des traitements de déshydratation et de stabilisation avant d'être rejetées dans le milieu naturel ou réutilisées à des fins agricoles ou énergétiques. (Blondeau, 1985).

**Fig. 17**

### ✓ Objectifs

Quelle que soit la destination des boues qui impose la mise en place d'une filière de traitement, ou s'attachera lors du traitement à :

- Réduire les volumes et éviter la fermentation (odeurs).
- Limiter au maximum les risques pathogènes.
- Utiliser des procédés permettant de conserver une valeur aux boues.
- Eventuellement réutiliser ce produit (valoriser).
- Réduire, dans certains cas, la masse de façon ultime.
- Modifier les caractéristiques de la boue afin de faciliter la séparation des phases solides et liquides.
- Augmenter la siccité afin de rendre le produit solide ou pâteux. (Koller, 2004)



**Figure 17:** Représentation schématique d'une filière de traitement des boues

### 5.1 Épaississement des boues

L'objectif de cette étape est de réduire la quantité d'eau pour diminuer le volume des boues pour les étapes suivantes de traitement. Très souvent l'épaississement est réalisé par des moyens physiques telle la flottaison, la centrifugation ou la mise dans des bassins pour une simple sédimentation. (Boeglin, 2001).

Il existe deux types d'épaississement :

- Épaississement gravitaire
- Épaississement dynamique

### 5.1.1 Épaississement gravitaire

D'une façon générale, la technique de concentration des boues la plus utilisée.

Elle consiste à faire séjourner des boues dans des bassins de forme cylindro-conique. Jusqu'à 5 m de diamètre, on peut utiliser le type statique, simple cuve cylindrique à fond conique (45 à 70° sur l'horizontale). Au-delà de cette dimension, on munit des cuves à radier à pente faible d'un système de raclage et d'agitation lente dont le rôle est double :

- Faciliter le glissement des boues vers la fosse centrale d'où elles sont extraites.
- Permettre le dégagement de l'eau interstitielle et des gaz occlus dans les boues au moyen d'une herse verticale accrochée au dispositif tournant. (Boeglin, 2001).

### 5.1.2 Épaississement dynamique

Au classique épaississement par décantation statique sont venues s'ajouter, depuis quelques années, trois techniques d'épaississement dynamiques qui, en particulier avec les boues légères (comme les boues biologiques en excès), permettent d'obtenir des meilleurs taux d'épaississement au prix, il est vrai, d'une plus forte dépense d'énergie électrique et éventuellement de réactifs flocculants. Il s'agit de la flottation, de la décantation centrifuge et, plus récemment, des grilles et tamis d'égouttage. (Boeglin, 2001).

#### 5.1.2.1 Épaississement par flottation

Il présente un grand intérêt pour la concentration de suspensions boueuses à « floccs » légers, de faible décantabilité (boues d'hydroxydes métalliques, boues biologiques en excès à titre indicatif...). Le procédé généralement mis en œuvre en traitement des boues est l'aéroflottation, qui produit des micros bulles d'air selon la technique de pressurisation – détente : (détente du fluide préalablement mis en contact avec l'air comprimé à une pression comprise entre 3 et 6 bars).

#### 5.1.2.2 Épaississement par centrifugation

Peu utilisé jusqu'à présent, en raison essentiellement de problèmes de colmatage, cette technique paraît cependant assez bien adaptée à l'épaississement des boues activées sans conditionnement polymérique préalable.

Des résultats très prometteurs ont été obtenus également avec des machines du type décanteuse continue à axe horizontal lorsqu'elles sont conçues avec un bol plein cylindroconique d'angle de conicité très réduit (de l'ordre de 4° pour certains modèles).

## 5.2 Stabilisation des boues

La notion de stabilisation renseigne sur le niveau d'odeur de la boue (absence d'odeur, ou odeur faible, moyenne, forte). Les traitements de stabilisation utilisés sont de type biologique, chimique ou thermique. Ils s'appliquent aux boues mixtes fraîches, aux boues secondaires ou à l'ensemble des boues afin de réduire leur fermentescibilité et limiter, voire annuler, les nuisances olfactives. (Koller, 2004).

### 5.2.1 Stabilisation biologique

Elle réduit la teneur des boues en matières fermentescibles. La stabilisation biologique se fait soit par voie aérobie dans les bassins d'aération, jusqu'à l'obtention des boues à teneur non négligeable en oxygène et biologiquement stable. (CNB, 2001).

### 5.2.2 Le compostage

Le compostage constitue un procédé particulier de stabilisation biologique aérobie. Il se réalise de préférence sur des boues déjà déshydratées d'une façon à économiser l'approvisionnement en support de compostage. Les boues compostées ont un aspect de terreau et présentent une structure solide ; elles sont stables. On constate actuellement, un fort regain d'intérêt pour cette technique en raison des nouvelles données réglementaires et économiques concernant la gestion des déchets. Le compostage se pratique dans des stations de moyenne taille et ne représente que 2% des tonnages des boues. (O.P.E.C.S.T, 2001).

### 5.2.3 La stabilisation chimique

Elle bloque l'activité biologique, et donc l'évolution de la boue, par adjonction d'une quantité importante de chaux (10 à 50% de la matière sèche, en général 30%) élevant le pH au-delà de 12. Ce traitement apporte un appoint en calcium qui peut être bénéfique, si la boue sera valorisée. (Koller, 2004).

### 5.2.4 Le séchage thermique

Le séchage thermique des boues revêt un effet temporaire de stabilisation (par absence d'eau), son intérêt est la réduction des volumes et des odeurs. Le séchage se fait soit par action de soleil soit celle de chaleur. (SPDE, 2006).

## 5.3 La déshydratation des boues

Il correspond à une augmentation forte de siccité, modifie l'état physique des boues, en passant de l'état liquide à l'état pâteux ou solide. Le traitement des boues est complété par la déshydratation, qui a pour but d'éliminer le maximum de l'eau résiduelle. Cette technique, conduit à l'obtention d'un déchet solide, facilement manutentionnable et de volume réduit. (Nakib, 1986)

### 5.3.1 Lit de séchage

La technique des lits de séchage se pratique à l'air libre sur des boues liquides et combiné à une évaporation naturelle et le drainage de l'eau libre à travers une couche filtrante de sable et de graviers. L'emprise au sol est de 1 m<sup>2</sup> pour 4 à 5 habitants raccordés.

Ce système extensif donne des boues solides à 35 – 40 % de siccité mais reste fort dépendant des conditions météorologiques. **(Jamonet, 1987)**

### 5.3.2 Le séchage thermique

Des boues revêtent un effet temporaire de stabilisation (par absence d'eau), persistant aussi longtemps que les boues ne sont pas réhumectées. Pour des raisons de cout, le séchage se pratique sur des boues déjà déshydratées mécaniquement. Le séchage thermique permet une élimination quasi-totale de l'eau (siccité d'environ 95%). Les boues obtenues sont pulvérulentes ou en granulés. En raison des couts énergétiques, ce procédé reste peu utilisé, malgré son intérêt manifeste sur la réduction des volumes à manipuler.

### 5.3.3 Déshydratation mécanique

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

## 5.4 Les traitements d'hygiénisation

L'hygiénisation est un traitement qui réduit à un niveau non détectable les agents pathogènes présents dans la boue. 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. **(Arrêté du 8 Janvier 1998)**

## 6. Destination finale des boues

Les éliminations finales des boues de station d'épuration sont, la mise en décharge, l'incinération et la valorisation agricole.

### 6.1 La mise en décharge

La mise en décharge contrôlée consiste en un enfouissement des boues (souvent mélangées avec des ordures ménagères). Les boues doivent être préalablement stabilisées et déshydratées avec une humidité maximale de 70%. **(Lassee, 1985)**

## 6.2 Incinération

Les boues seules ne sont pas autos combustibles, elles nécessitent des fours spéciaux et un mélange avec d'autres déchets tels les déchets ménagers. L'élimination des cendres et des mâchefers exigent une décharge contrôlée de classe 1. Cette technique reste aussi néfaste de point de vue écologique et environnemental puisqu'elle contribue en plus du gaspillage de matières organiques utiles pour le sol à la diffusion de gaz très toxiques (NO, CO, SO, dioxine, etc.) qui ont fait l'objet de réglementations spécifiques. (**Mininni et al., 2004**)

## 6.3 Valorisation agricole

Cette pratique, en usage de plus de 30 ans, constitue une solution particulièrement favorable à l'environnement car elle offre l'opportunité de recycler la M.O nécessaire au sol, de plus, Les boues représentent un fertilisant peu onéreux, qui permet à l'agriculteur de réduire ses charges en engrais et fertilisant classiques. Quelque soit sa forme (boues liquides, pâteuses, solides ou sèches), la valorisation agricole doit être précédée d'une enquête préalable et s'entourant de tous les précautions scientifiques, techniques et réglementaires. (**Collection OTV, 1997**)

# *Chapitre III*

## *Matériel et Méthodes*



## 1. Objectif

L'objectif de notre travail pratique est d'étudier la qualité bactériologique des boues sèches prélevées de la station d'épuration de Guelma STEP.

## 2. Description de la STEP des eaux usées de la ville de Guelma

### 2.1 Localisation et fonctionnement de la STEP

La STEP de Guelma est située sur la route nationale N°21, pont Héliopolis près d'Oued Seybouse. Elle est fonctionnelle depuis le 18 Février 2008 à raison d'un traitement d'environ 32000 m<sup>3</sup>/jour au temps sec et 43000 m<sup>3</sup>/jour au temps de pluie (**Tabet, 2014**).

La station est implantée sur un terrain agricole de 7.8 hectares avec une capacité de 200 000 équivalents / habitant. Elle utilise le procédé de culture libre (boue activée) comme procédé d'épuration. Les eaux usées urbaines de la ville de Guelma sont collectées 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 m<sup>3</sup>/h.
- SR2 : alimentée par Oued Skhoun, avec un débit de 1125 m<sup>3</sup>/h

## 3. Le mode de prélèvement

Les prélèvements des échantillons des boues en vue d'une analyse microbiologique se fait dans des flacons en verre stérilisés selon un mode de prélèvement précis afin d'éviter toute contamination accidentelle (**Rodier, 2009**).

Il est recommandé d'opposer une étiquette permettant d'inscrire ultérieurement l'identification du prélèvement : le nom du site, la date, l'heure et l'ordre de prélèvement, pour éviter toute confusion (**Delarras, 2003**).

### 3.1 Prélèvement de boues sèches

Il se fait directement, en utilisant une petite pelle, car ce type de boues est sous forme boues sèches dans des récipients cylindriques stériles en verre bien fermés. (**Rodier, 1996**)

## 4. Analyse bactériologique

Les analyses bactériologiques ont été réalisées dans les laboratoires de microbiologie et de biochimie du département de Biologie à l'université 08 Mai 1945 Guelma.

Les analyses bactériologiques des boues ont porté dans un premier temps sur le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale, des coliformes totaux (CT), des coliformes (CF), des streptocoques fécaux (SF), des anaérobies sulfito-réducteurs (ASR), des streptomycètes et des pseudomonas. Dans un second temps, l'isolement, la purification et l'identification de bactéries pathogènes ont été réalisés.

#### 4.1 Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C

Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobie à des températures optimales de croissance (après 24h à 37°C) (Kéleké *et al.*, 2004).

##### ❖ Mode opératoire

A partir de boue à analyser et des dilutions décimales  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ , porter aseptiquement 1 ml dans trois boîtes de Pétri vides, numérotées et préparées à cet usage. **Fig. 18**

Compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à environ 45°C. Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » sur une surface horizontale pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose (Lebres, 2002).

Les boîtes sont incubées à 37°C, pendant 48 heures.

##### ❖ Lecture

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

Calculer la valeur du nombre N de microorganismes revivifiables à 37 °C, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum c}{1.1 \times d}$$

Où :

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

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

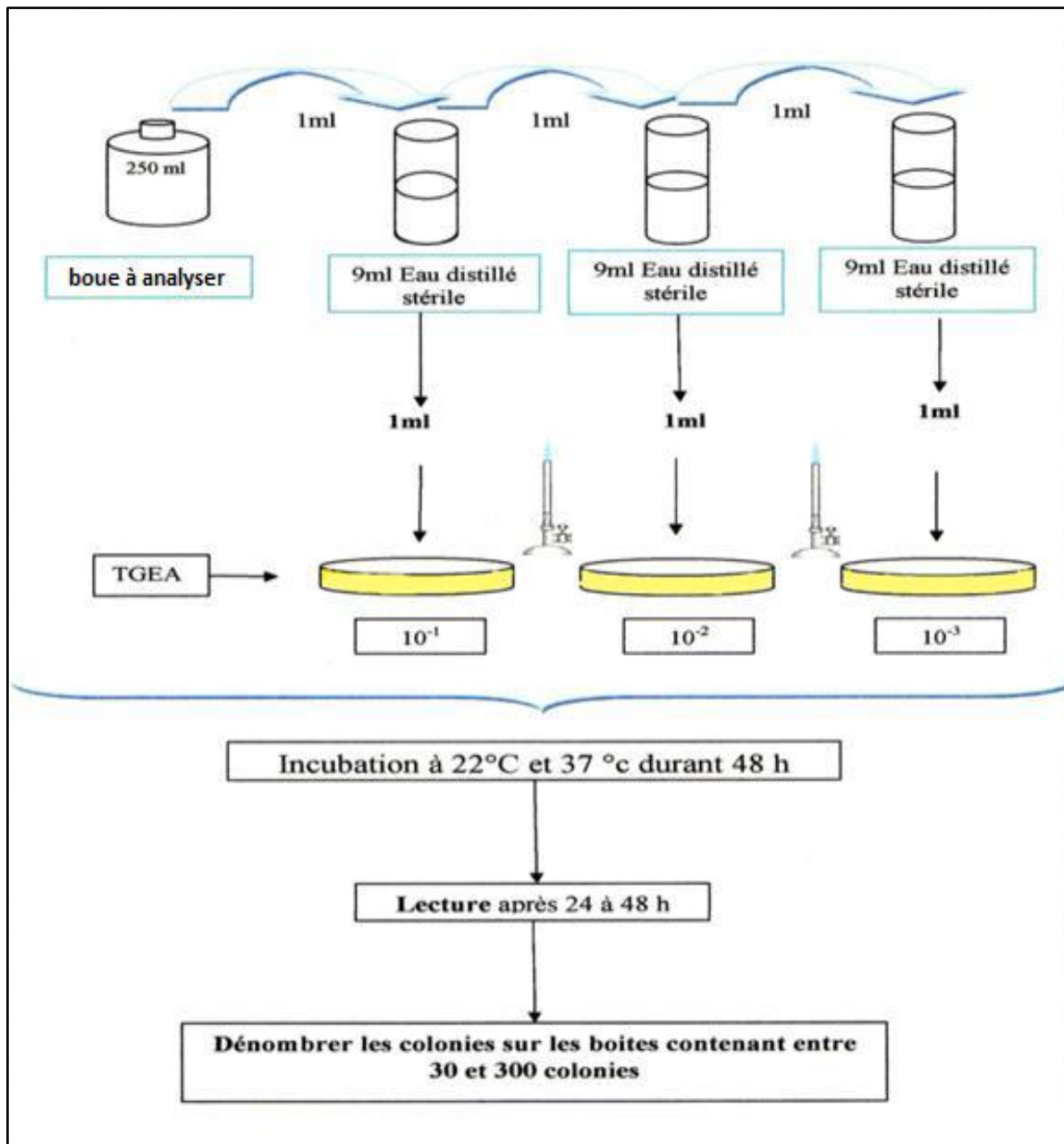


Figure 18: Recherche des germes totaux

#### 4.2 Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale

Le terme coliforme a été proposé par Breed et Norton en 1937 pour désigner les bactéries fermentant le lactose, recherchées comme indicateurs de pollution fécale (Pourcher, 1991).

La recherche et le dénombrement des CF et des SF 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 (Rodier, 2009).

#### 4.2.1 Recherche et dénombrement des *Coliformes totaux* et *Coliformes fécaux*

Les *coliformes totaux* sont des bacilles à Gram (-), non sporulé, oxydase (-), aérobie et anaérobie facultatifs. Ils se multiplient à 37°C pendant 24h.

- La recherche présomptive des coliformes totaux sur milieu Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésole (BCPL) (Abouelouafa, 2002).

Le terme de « *coliformes fécaux* » ou de « *coliformes thermotolérants* » correspond à des coliformes qui présentent les mêmes propriétés que les coliformes totaux après incubation à la température de 44 °C (Rodier, 2009).

- La recherche confirmative des CF sur milieu eau peptonée exempte d'indole.

##### A. Test présomptif

###### ❖ Mode opératoire

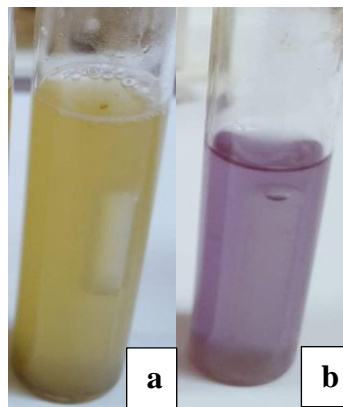
A partir de boue testée, on porte aseptiquement :

- 03 fois 10 ml, dans 03 tubes contenant 10ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham.
- 03 fois 01 ml, dans 03 tubes contenant 10ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham.
- 03 fois 0.1 ml, dans 03 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham. **Fig. 20**

###### ❖ Lecture

Après 24 Heures d'incubation à 37°C, seront considérés comme positifs les tubes qui présentent à la fois un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune et un dégagement gazeux (supérieur au 1/10<sup>ème</sup> de la hauteur de la cloche). **Fig. 19**

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

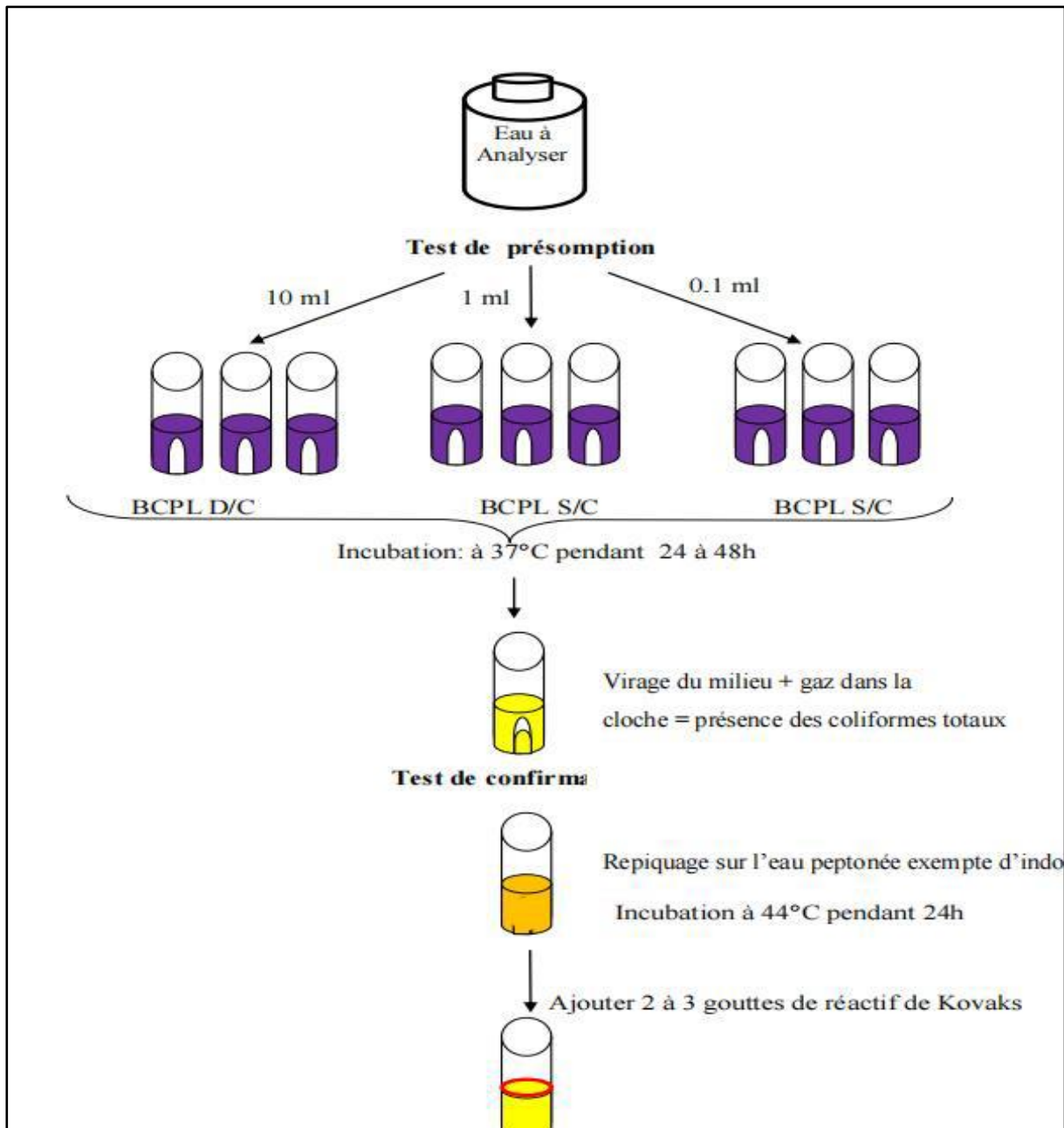


**Figure 19:** Lecture du test présomptif (a : Positif. b : Négatif).

## B. Test confirmatif

### ❖ Mode opératoire

Les tubes de BCPL qui montrent un résultat positif après le test présomptif font l'objet d'un repiquage dans des tubes contenant le milieu eau peptonée exempte d'indole l'incubation se fait à 44 °C pendant 24 heures **Fig. 20 (Rejsek, 2002)**.

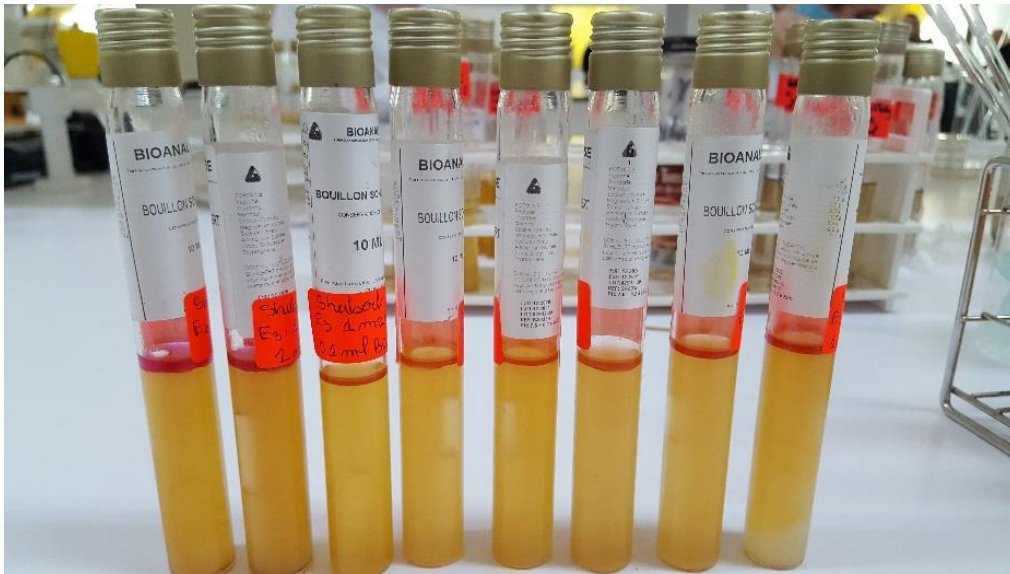


**Figure 20:** Recherche et dénombrement des coliformes.

### ❖ Lecture

Les tubes qui présentent à la fois un anneau rouge en surface (Témoin de la production d'indole par *Escherichia coli*), après adjonction de 2 à 3 goûtes du réactif de Kovacs et un dégagement

gazeux se considèrent comme positifs. Le dénombrement s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP. **Fig. 21 (Rejsek, 2002).**



**Figure 21:** La production d'indole par *Escherichia coli*.

#### 4.2.2 Recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux*

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

On fait 2 tests successivement :

- Un test présomptif sur milieu de Rothe.
- Un test confirmatif sur milieu Eva-Litsky.

L'incubation dans les 2 tests se fait en 37°C pendant 24 à 48h (**Rodier, 2009**).

##### A. Test présomptif

###### ❖ Mode opératoire

- A partir de boue à analyser, porter aseptiquement 1 ml dans un tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C pour obtenir la dilution  $10^{-1}$ .
- Prélevé 1ml de tube précédent  $10^{-1}$  et mettre dans le second tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C pour avoir la dilution  $10^{-2}$ .
- Transférer 1ml de la dilution  $10^{-2}$  dans un tube contenant 9 ml de milieu Rothe S/C, pour obtenir la dilution  $10^{-3}$ . **Fig. 22**

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

**❖ Lecture**

Les tubes présentant un trouble microbien seront considérés comme positifs, et la lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP.

**B. Test confirmatif****❖ Mode opératoire**

Le test confirmatif est basé sur la confirmation des streptocoques du groupe (D) éventuellement présents dans le test de présomption. **Fig. 22**

Les tubes de Rothe trouvés positifs feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'un ose bouclé dans un tube contenant le milieu Eva-Litsky, bien mélangé le milieu et l'inoculum (**Rejsek, 2002 ; Délarras, 2008**).

L'incubation se fait cette fois ci à 37°C, pendant 24 à 48 heures.

**❖ Lecture**

Seront considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond de tube.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP (**Rejsek, 2002**).

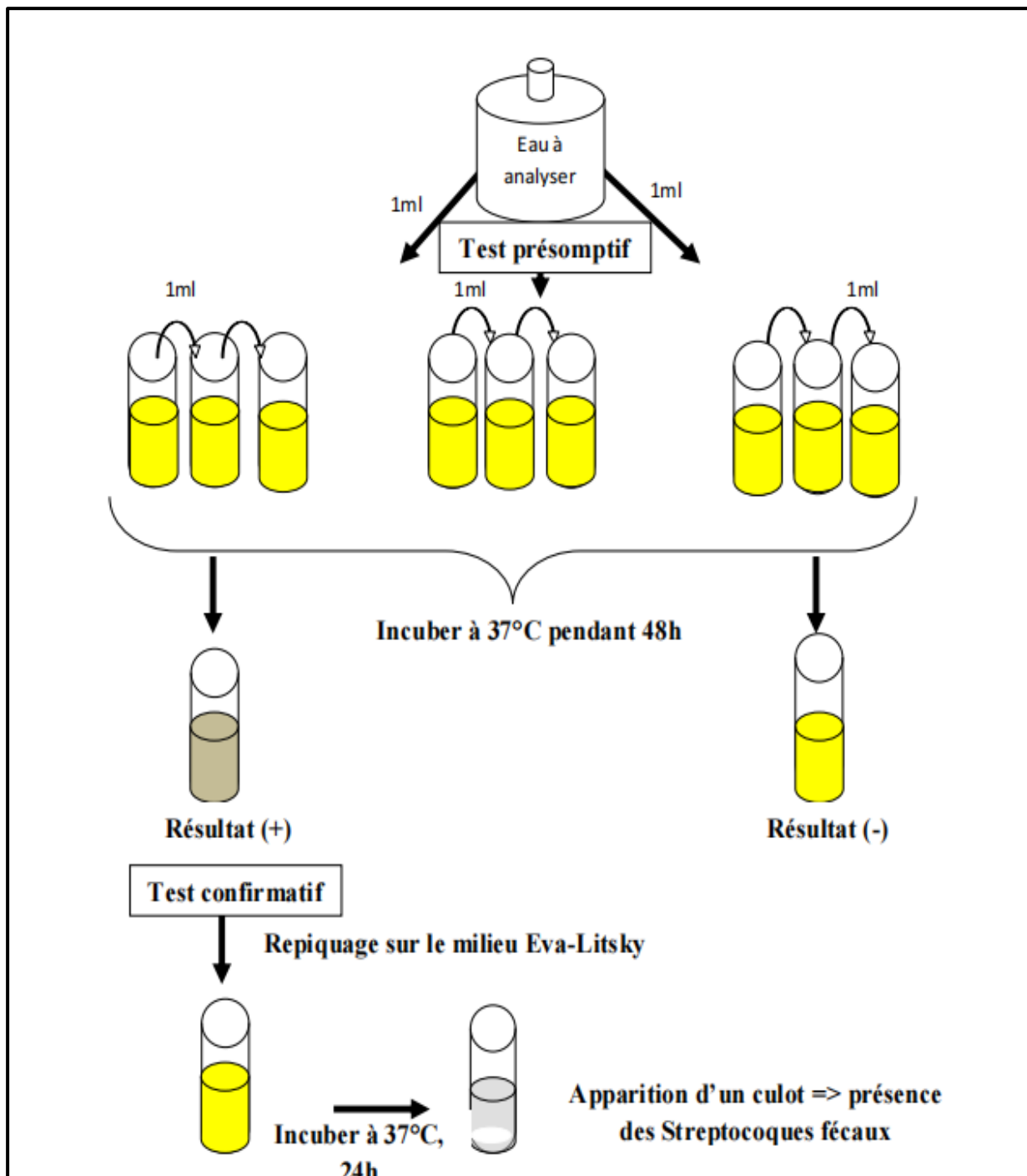


Figure 22: Recherche et dénombrement des *Streptocoques*.

#### 4.2.3 Recherche et dénombrement des spores de bactéries *anaérobies sulfito-réducteurs* (ASR)

Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram (+), se développant en 18 à 24 heures sur une gélose viande foie (VF) en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence



de  $\text{Fe}^{2+}$  donne  $\text{FeS}$  (sulfure de fer) de couleur noire. Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne. (Rejsek, 2002).

#### ❖ Mode opératoire

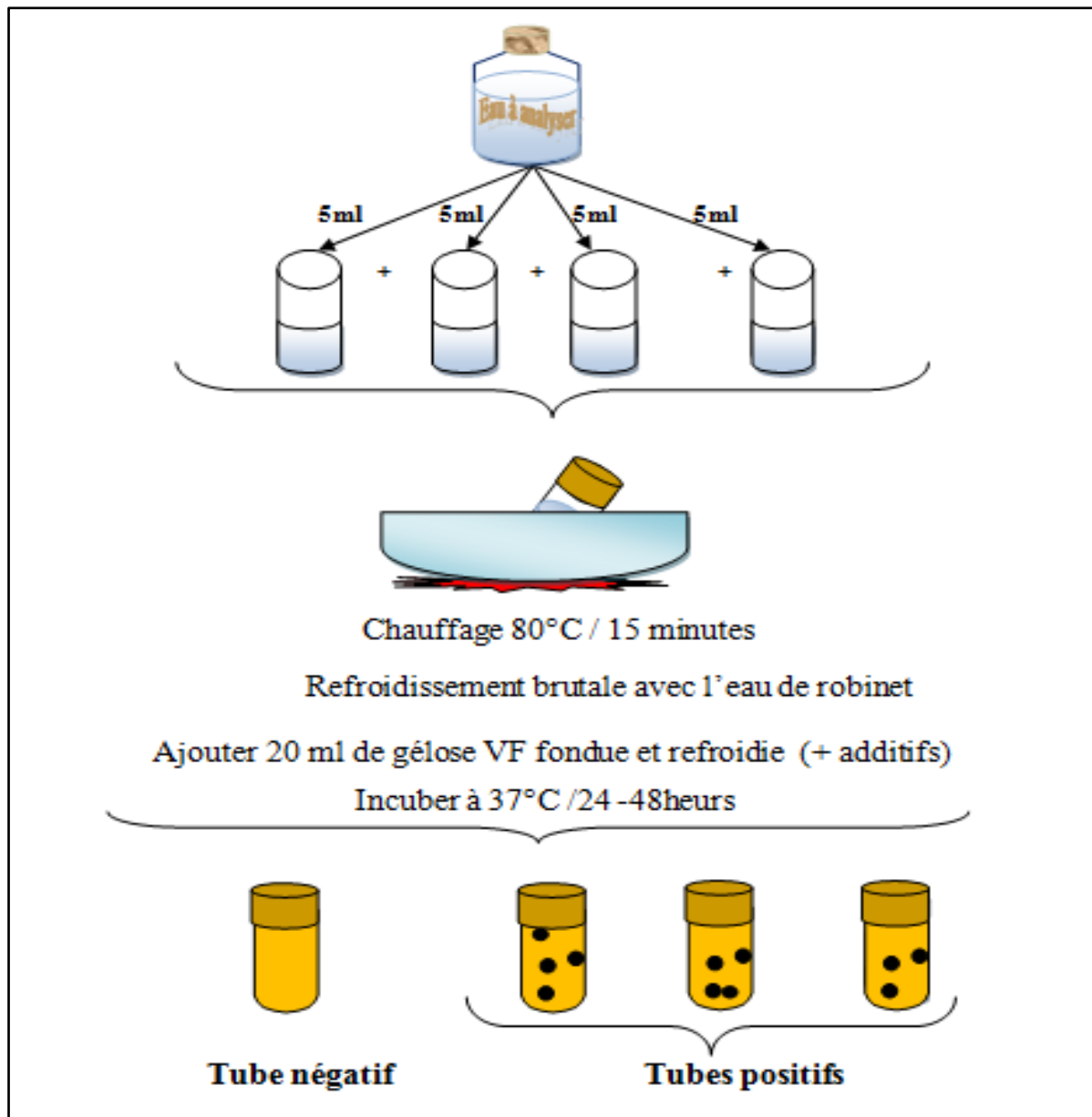
À partir de la solution mère :

- Prendre environ 20 ml dans un flacon stérile puis le soumettre à un chauffage à  $80^{\circ}\text{C}$  pendant 8 à 10 minutes dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Refroidir immédiatement le flacon sous l'eau de robinet.
- Répartir ensuite le contenu de ce flacon dans 4 tubes stériles, à raison de 5ml par tube.
- Ajouter environ 20 ml de gélose VF, fondue et additionnée d'une ampoule d'Alun de fer et d'une ampoule de Sulfite de sodium.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air. **Fig. 23**

Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à  $37^{\circ}\text{C}$ , pendant 18 à 24 heures (Labres, 2006).

#### ❖ Lecture

Considérer comme résultat d'une spore de bactérie anaérobie sulfito-réductrice toute colonie noire entourée d'un halo noir. Exprimé en nombre de spores par 100ml de la boue analysée, leur taille varie selon l'espèce bactérienne. **Fig. 23**



**Figure 23:** La recherche des spores de bactéries *Anaérobies sulfito-réducteurs* (ASR). (Rejsek, 2002).

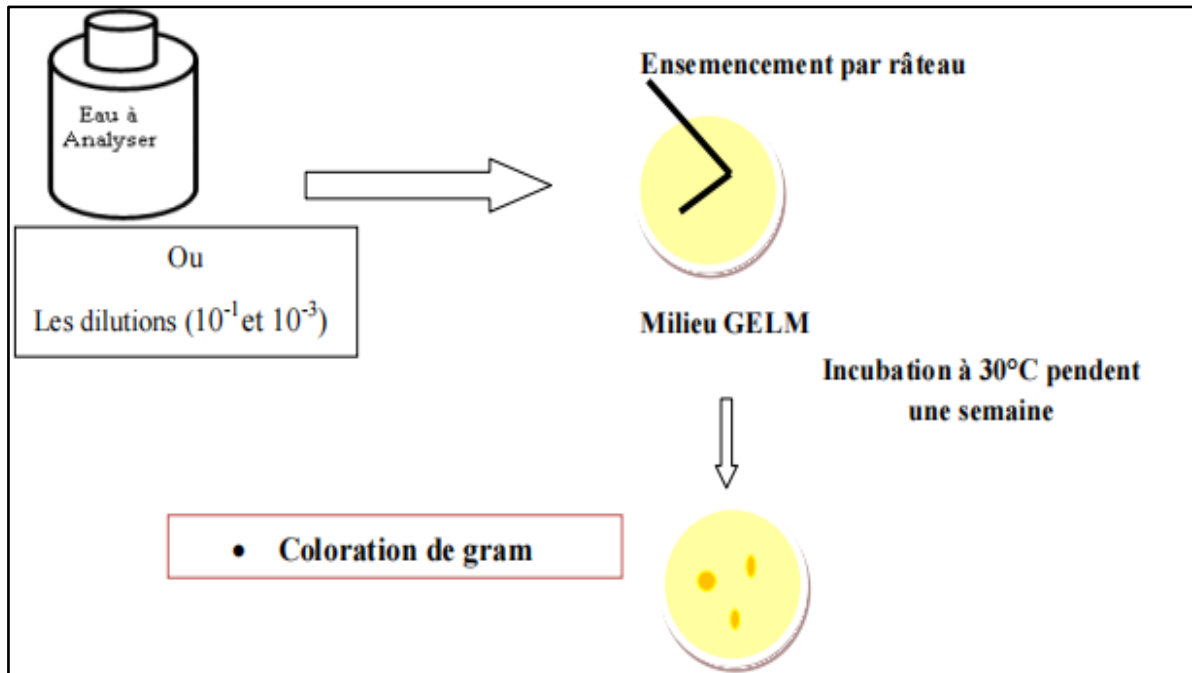
#### 4.3 Recherche et dénombrement des *Streptomyces*

Les germes du genre *Streptomyces* sont des bactéries aérobies, présentant un groupe de bactéries non mobiles à Gram (+), catalase (+), filamenteuses et productrices des spores (Délarras, 2000).

##### ❖ Mode opératoire

À partir des dilutions décimales ( $10^{-1}$  et  $10^{-3}$ ), on ensemence 0.2 ml par râtelier toute la surface des boîtes de pétri contenant le milieu GELM. Par la suite, les boîtes sont incubées à 30°C

pendant une semaine **Fig.24**, les colonies développées à la surface seront dénombrées. (Guenifi, 2008).



**Figure 24:** Recherche des *Streptomyces*

#### 4.4 Recherche des germes pathogènes

Les géloses employées sont : Hektoen, Salmonella-Shigella (SS), Chapman au mannitol, Cétrimide, Gélose nutritive alcaline biliée (GNAB) et Gélose Sabouraud au chloramphénicol. L'inoculum est prélevé directement à partir de boue à analyser est déposé sur un point périphérique de la gélose puis disséminé sur toute la surface. Les boîtes sont codées puis incubées à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48 heures (Aissam, 2003).

##### 4.4.1 Recherche et dénombrement du *Pseudomonas*

*Pseudomonas aeruginosa* ou bacille pyocyanique est un bacille Gram négatif, aérobie stricte, mobile, oxydase (+), capable de produire de l'ammoniac à partir de l'acétamide (Delarras, 2003).

##### ❖ Isolement

A partir de boue à analyser porter aseptiquement 0.2 ml et l'on étale à la surface de gélose Cétrimide, à l'aide d'un râteau, puis on incube à  $36^{\circ}\text{C}$  pendant 18 à 24 h (Rejsek, 2002).

### ❖ Lecture et interprétation

Considérer comme colonie caractéristique toute colonie présentant une fluorescence. Du fait de la sélectivité du milieu Cétrimide, on peut suspecter les colonies présentes d'être *Pseudomonas*. Dans tous les cas, il faudra réaliser une identification de l'espèce.

### ❖ Identification

Les principaux caractères pour l'identification de *Pseudomonas aeruginosa* :

- Observation macroscopique
- Coloration de gram
- Test oxydase
- Recherche des pigments spécifiques : pyocyanine et pyoverdine
- Test Citrate de Simmons
- API 20 NE

#### 4.4.2 Recherche des *Staphylocoques*

Les *staphylocoques* sont des Cocci à Gram positif, sphériques, isolées ou regroupées formant ainsi des grappes de raisin, non mobiles, asporulés et habituellement non capsulés. La plupart des espèces sont aéro-anaérobies facultatives et à catalase et coagulase positive. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 37 °C sur un milieu sélectif chapman au mannitol. (Carbannelle, 1988 ; Pechère *et al.*, 1982).

### ❖ Mode opératoire

À partir de la solution mère et des dilutions décimales ( $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ ), on ensemence 0.2 ml par un râteau toute la surface des boîtes de pétri contenant le milieu Chapman au mannitol. Par la suite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures, les colonies développées à la surface seront dénombrées. **Fig. 25 (Rodier, 2009).**

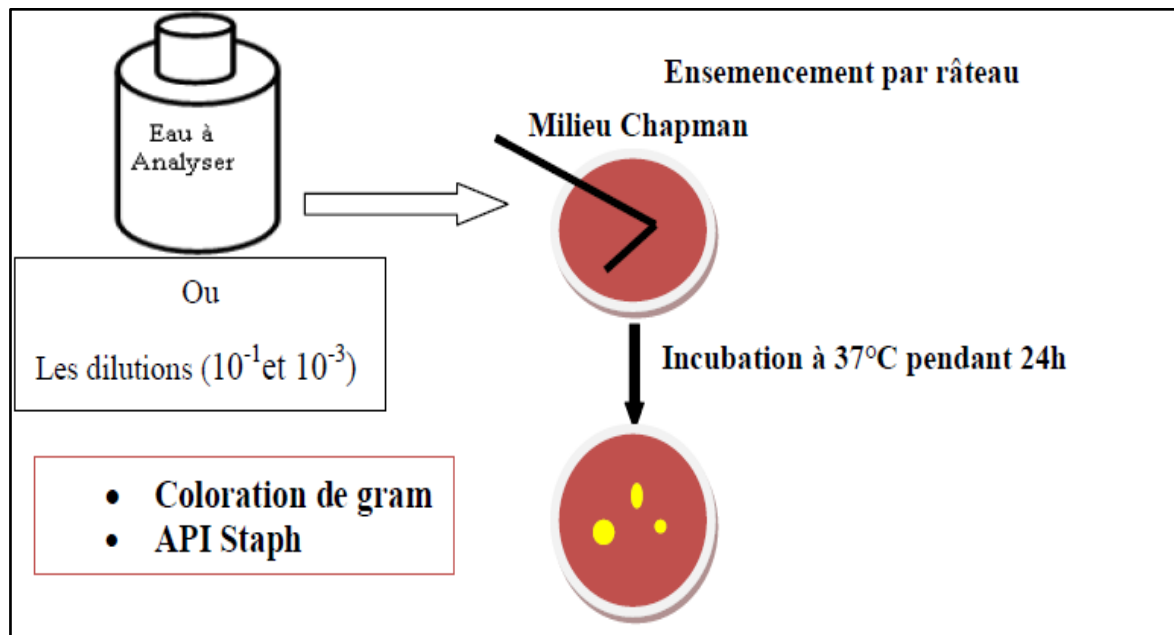
### ❖ Lecture

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

### ❖ Identification

Les principaux caractères pour l'identification de *Staphylococcus* :

- Observation macroscopique
- Coloration de gram
- Test catalase
- Test oxydase
- Galerie API Staph



**Figure 25:** Protocole de recherche de *Staphylococcus*

#### 4.4.3 Recherche des *Entérobactéries*

##### 4.4.3.1 Recherche des *Salmonelles*

Les *Salmonelles* possèdent les caractères des entérobactéries : Ce sont des. Bacilles droits à Gram négatif, souvent mobile et alors à ciliature péritriche, elles fermentent le Glucose avec ou sans production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites, elles sont oxydases (-), catalases (+) non sporulés, aéro-anaérobie facultative (Freney *et al.*, 2000).

### ❖ Mode opératoire

#### • Premier jour : Enrichissement

Introduire 1ml de l'échantillon des boues dans 10 ml de sélénite cystéine (SFB). Puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 h (Navoun, 2005).

- **Deuxième jour : Isolement et identification**

La gélose sélective a été utilisée : gélose Hektoen qui est ensemencé par technique d'étalement en surface à raison de 0,2 ml puis incubées à 37°C pendant 24 heures. **Fig 26** (Navoun, 2005).

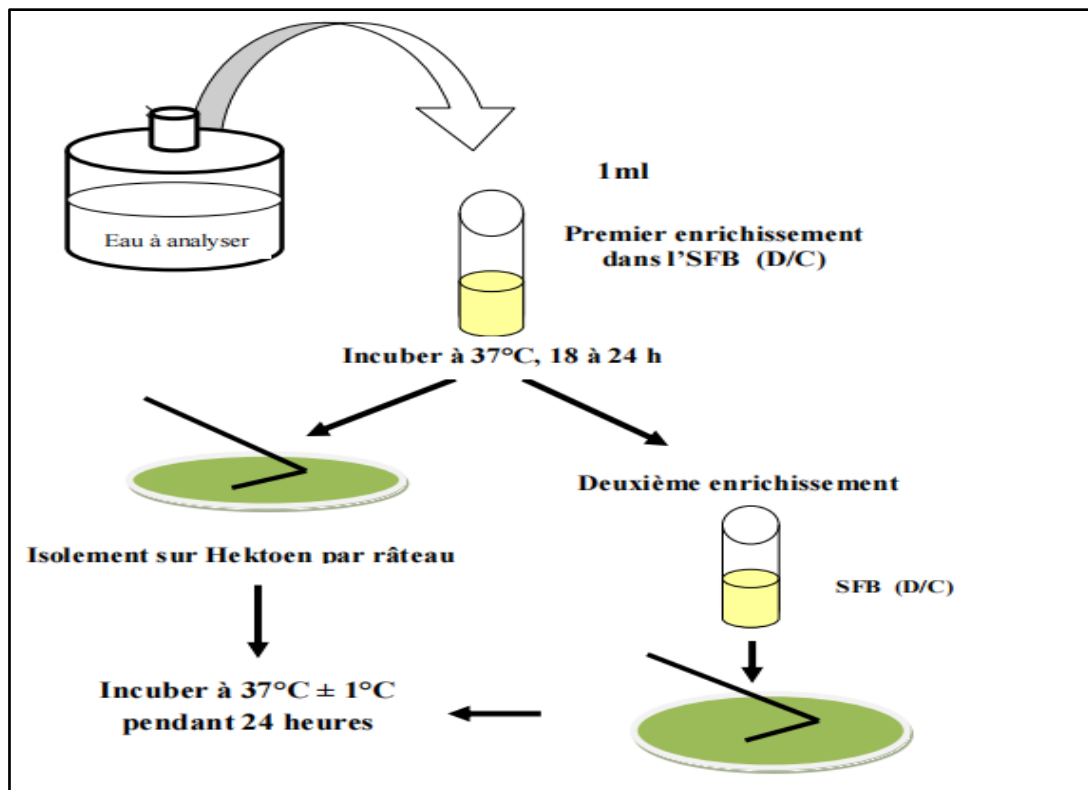
- ❖ **Lecture**

Après 24 heures, les salmonelles se présentent sous forme des colonies incolores à centre noir (H<sub>2</sub>S positif) sur SS et colonies verdâtre ou bleuâtres à centre noir sur Hektoen (Navoun, 2005).

- ❖ **Identification**

Les principaux caractères pour l'identification des *Salmonelles* :

- Observation macroscopique
- Coloration de gram
- Test oxydase
- Test catalase
- Galerie API 20 E



**Figure 26:** Recherche des *Salmonelles*.

#### 4.4.3.2 Recherche des *Shigelles*

Les *Shigelles* (genre : *Shigella*), sont des *Enterobacteriaceae*, rencontrées exclusivement chez l'homme, elles ne font partie d'aucune flore commensale chez l'homme, elles sont toutes pathogènes et spécifiques du tube digestif, éliminées par les selles et dispersées dans les sols et les eaux où elles ne survivent que peu de temps. Morphologiquement ce sont des bacilles Gram négatifs, immobiles ; dépourvus de spores et de capsules très proches du *E. coli*. (**Carbonnelle et al., 1988**).

##### ❖ Mode opératoire

À partir des dilutions décimales ( $10^{-1}$  et  $10^{-3}$ ), on porte aseptiquement 0.1 ml (2 gouttes) à l'aide d'une anse de platine stérile dans des boîtes de pétri contenant gélose Salmonella-Shigella (Gélose SS). Par la suite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. (**Rodier, 2009**)

##### ❖ Lecture :

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

- Colonies incolores : absence d'acidification du milieu, fermentation du lactose (-).
- Production d'H<sub>2</sub>S : qui réduit le citrate de fer en sulfure de fer, ce qui forme un précipité noir au centre des colonies (**Rodier, 2009**).

##### ❖ Identification

Les principaux caractères pour l'identification des *Shigelles* :

- Observation macroscopique
- Observation microscopique
- Test catalase
- Test oxydase
- Galerie API 20 E

#### 4.4.3.3 Recherche des *Vibrio*

Les *Vibrionaceae* sont des bactéries qui se présentent sous forme de Bacilles à Gram Négatifs droits ou incurvés (BGN), très mobiles, possédant une oxydase, aéro-anaérobies facultatifs, fermentant le glucose sans production de gaz ni d'H<sub>2</sub>S, hautement pathogènes (**Pechère et al., 1982**).

##### ❖ Mode opératoire

###### • Jour 1 : Premier enrichissement

Le premier enrichissement s'effectue dans des tubes en portant 10 ml de milieu eau peptonée alcaline (EPA), ce dernier sera par la suite incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures, comme l'indiqué **Fig. 27 (Lebres, 2008)**.

- **Deuxième jour : enrichissement secondaire et Isolement**

- D'une part, d'un deuxième enrichissement sur milieu EPA en tubes à raison de 1 ml
- D'autre part, d'un isolement sur gélose GNAB.

Dans les deux cas l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

- **Troisième Jour : Lecture des boîtes et identification**

- D'une part, le tube d'EPA fera l'objet d'un isolement sur GNAB 2 ; qui sera incubé à son tour à 37° C pendant 24 heures.
- D'autre part, les boîtes de gélose GNAB 1 subiront une lecture en tenant compte du fait que les Vibrions se présentent le plus souvent sous forme de grosses colonies lisses et transparentes caractéristiques. **Fig. 27**

- ❖ **Identification**

Les principaux caractères pour l'identification des *Vibrio cholerae* :

- Observation macroscopique
- Coloration de gram
- Test catalase
- Test oxydase
- Galerie API 20NE



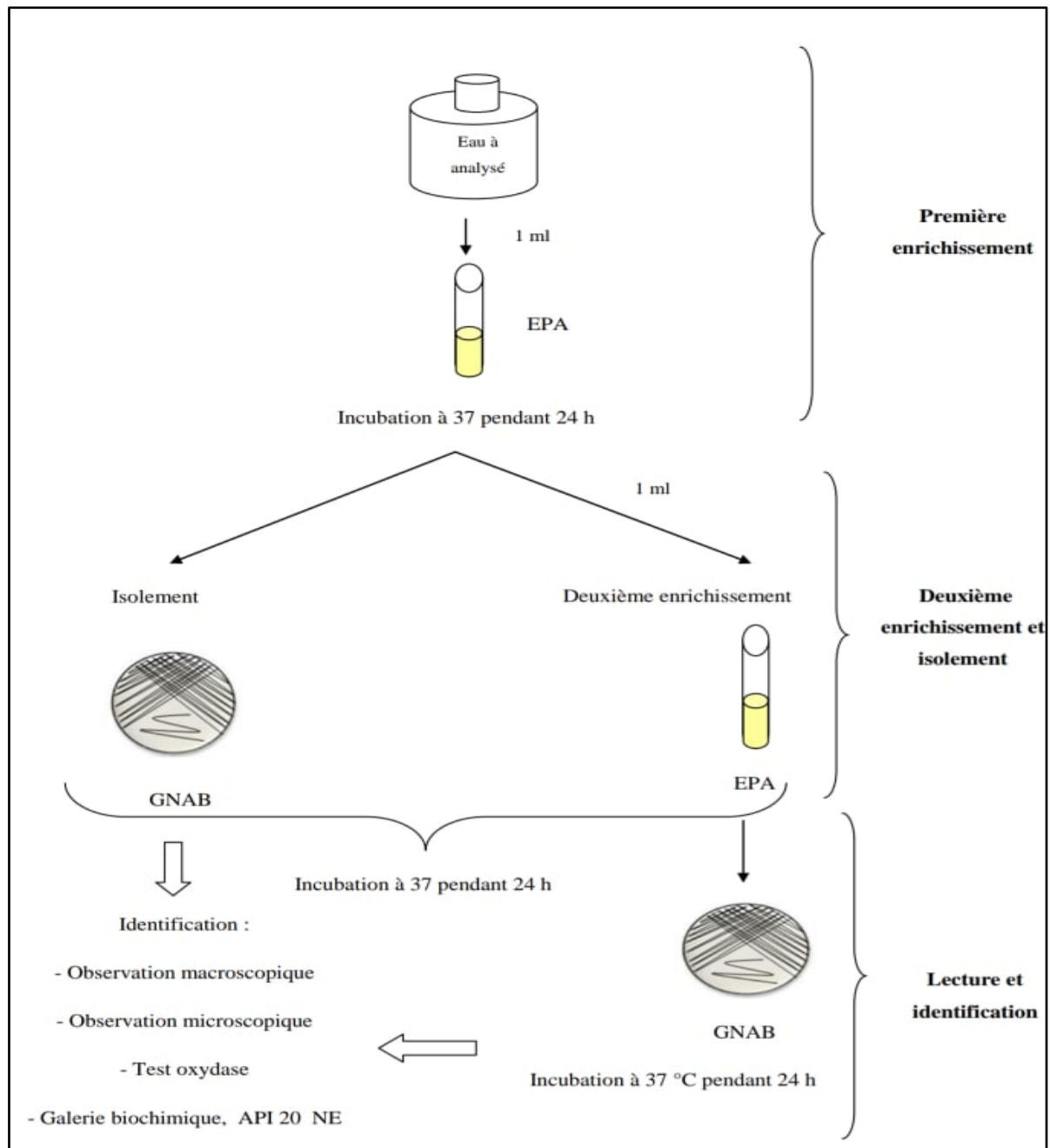


Figure 27: Recherche des *Vibrio*

#### 4.4.3.4 Recherche des levures (*Candida albicans*) et des moisissures

Les moisissures et les champignons sont des éléments naturels de l'environnement et jouent un rôle essentiel dans la décomposition des feuilles, des arbres et des débris végétaux. L'humidité est l'élément vital de la croissance des champignons et des moisissures (Guiraud, 1998).

##### ❖ Mode opératoire

Ensemencer 0.2 ml de la solution mère et des dilutions décimales ( $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ ), à la surface du Gélose Sabouraud (sélectif par pH acide, auquel est ajouté du chloramphénicol. Fig.28 (Aouissi, 2010).

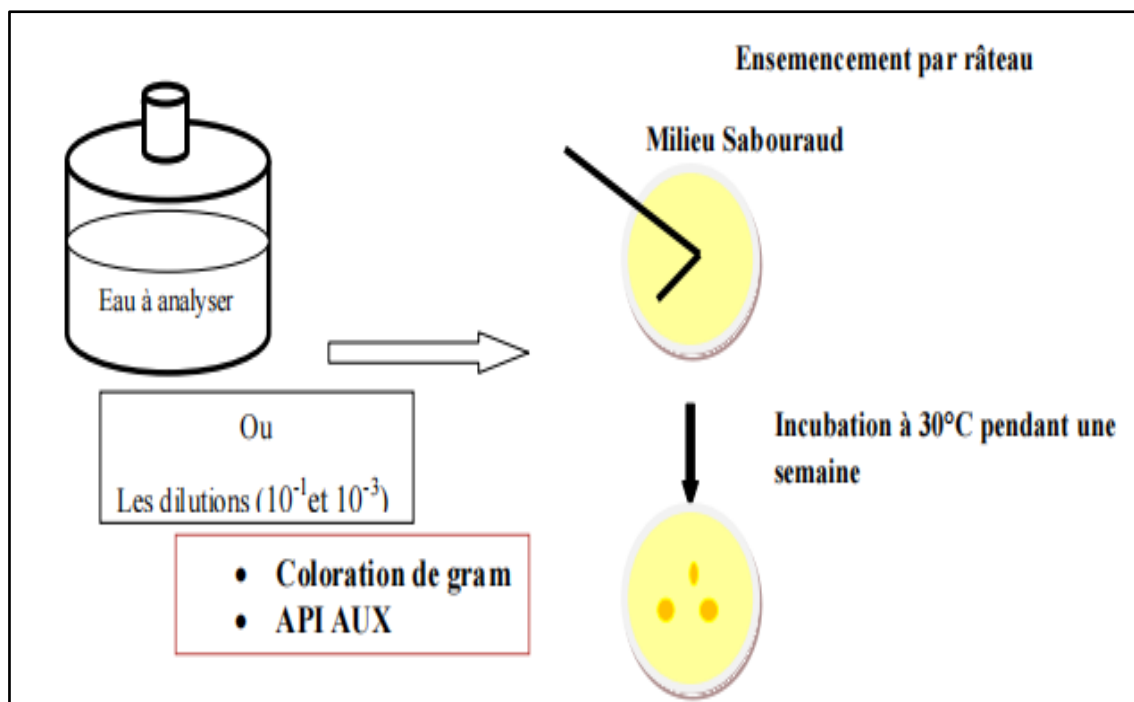
❖ **Lecture**

Les colonies *Candida albicans* apparaissent bombées, crémeuses et blanchâtres. Elles sont lisses et peuvent se plisser en vieillissant.

Les colonies des moisissures apparaissent Larges, thalle aux contours diffus, couleur variable (moisissures pouvant produire leur propre pigmentation), thalles apparaissant plats, le centre du thalle présente normalement une coloration intense.

❖ **Identification**

- Observation macroscopique
- Coloration au bleu de méthylène



**Figure 28:** Recherche des levures et des moisissures

## 5. Identification des bactéries isolées

### 5.1 Examen macroscopique des caractères culturaux

C'est l'étude de l'aspect des colonies. Cette étude nécessite l'observation à l'œil nu, en lumière naturelle et artificielle, par éclairage direct et par transparence des colonies.

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation (**Guezlane et al., 2008**).

L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation (**Joffin, 2009**).

Ces principaux caractères sont :

- **Taille** : c'est la mesure du diamètre des colonies à l'aide d'une règle graduée. On peut distinguer : colonies punctiformes, petites colonies (< 1mm), colonies moyennes (1,5 à 3 mm) et grosses colonies (> 3mm).
- **Forme de colonie** : à bords circulaires, irrégulières et parfois envahissantes.
- **Élévation de la colonie** : colonie convexe, colonie légèrement convexe et colonie plate.
- **Transparence** : Colonies transparentes (laissent passer la lumière et voir les formes au travers, comme le verre), colonies translucides (laissent passer la lumière mais en ne voit pas les formes au travers, comme le verre dépoli) et Colonies opaques (ne laissant pas passer la lumière).
- **Surface** : Colonies lisses, Colonies rugueuses et Colonies muqueuses.
- **Consistance** : on distingue les colonies grasses, crémeuses, sèches ou muqueuses.
- **Odeur** : présence ou absence.
- **Pigmentation** : Le caractère pigmenté spontané d'une colonie bactérienne doit être distingué du halo coloré périphérique signant le virage d'un indicateur de fermentation sucrée ou la mise en évidence visuelle recherchée d'un quelconque métabolite.

## 5.2 Examen microscopique

### 5.2.1 Examen microscopique 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 *et al.*, 2003).

#### Technique

- A partir d'une culture en milieu liquide, déposer sur une lame propre bien dégraissée une goutte de la culture à étudier à l'aide d'une anse de platine préalablement stérilisée.
- A partir d'une culture sur milieu solide, déposer tout d'abord sur une lame une goutte d'eau distillée stérile. Puis apporter et dissocier dans l'eau un inoculum bactérien.
- Recouvrir d'une lamelle, puis luter la préparation avec de la paraffine ou de la vaseline.
- Observer au microscope à l'objectif moyen  $\times 40$ . Pour mettre en évidence certains détails de structure, utiliser alors l'objectif  $\times 100$  à immersion.

### 5.2.2 Examen microscopique après coloration de Gram (coloration différentielle)

La coloration de Gram, est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie. Cette coloration permet de diviser les bactéries en deux classes : les Gram-positif et les Gram négatif. Elle est réalisée sur un frottis fixé à la chaleur comme suit :

- Recouvrir la lame de violet de Gentiane pendant 1 minute.
- Eliminer le violet de Gentiane (lavage à l'eau).
- Recouvrir le frottis avec du Lugol pendant 1 minute.
- Eliminer le Lugol.
- Décolorer à l'alcool, la lame est tenue inclinée (La durée de décoloration à l'alcool est variable selon l'épaisseur du frottis).
- Stopper la décoloration par un lavage à l'eau.
- Recouvrir la lame avec de la fuschsine pendant 30 secondes à 1 minute.
- Lavage à l'eau.
- Sécher la lame entre deux feuilles de papier buvard.
- Observer le frottis au microscope à l'objectif à immersion (x100).

Les bactéries à Gram positif apparaissent colorées en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

### 5.2.3 Coloration au bleu de méthylène (coloration non différentielle)

C'est une coloration simple, qui colore toutes les bactéries de la même façon sans distinction.

Elle est réalisée comme suite :

- Couler une solution de bleu de méthylène sur un frottis correctement fixé pendant 1 minute.
- Rinçage à l'eau de robinet.
- Sécher la lame entre deux feuilles de papier buvard.
- Observation au microscope optique aux objectifs (x10) et (x40).

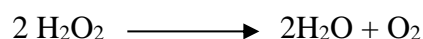
Les structures colorables apparaissent bleues.

## 5.3 Examens liés aux caractères biochimiques et enzymatiques

### 5.3.1 Caractères enzymatiques

#### • Test de catalase

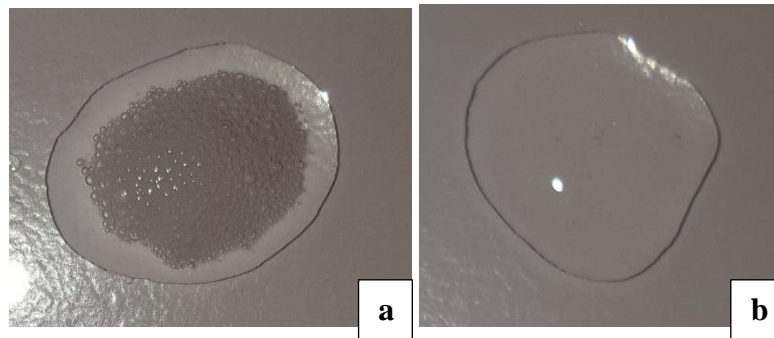
La catalase est une enzyme qui détruit les peroxydes toxiques pour les bactéries. Elle catalyse la transformation de peroxyde d'hydrogène en eau avec libération d'O<sub>2</sub>.



- Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram (+).

La méthode consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette Pasteur fermée que l'on introduit ensuite dans un millilitre d'eau oxygénée.

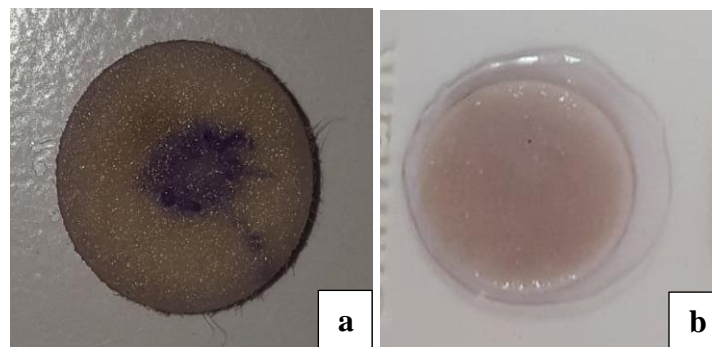
Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme catalase. **Fig. 29 (Carbannelle et al., 1988).**



**Figure 29:** Résultat du test catalase (a : Positif. b : Négatif).

- **Test d'oxydase**

La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer le disque sur une lame porte-objet, l'humidifier avec deux gouttes d'eau distillée stérile et écraser la colonie testée sur le disque. Une réaction positive se traduit par un virage rapide du réactif de l'incolore au violet. **Fig. 30 (Carbannelle et al., 1988).**



**Figure 30:** Résultat du test oxydase (a : Positif. b : Négatif).

### 5.3.2 Caractères biochimiques

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

- Le milieu King A est destiné à favoriser sélectivement la synthèse de la pyocyanine (pigment élaboré spécifiquement par *Pseudomonas aeruginosa*).
- Le milieu King B est destiné à favoriser la synthèse de pigment jaune-vert fluorescent pyoverdine (Bouchaala, 2010).

- ❖ **Mode opératoire**

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

Enfin on incube à 37°C pendant 24h à 48h.

❖ **Lecture**

- Couleur bleue fluorescente sur le milieu King A : présence de pyocyanine.
- Couleur jaune-vert fluorescente sur le milieu King B : présence de pyoverdine (**Pillet et al., 1987**).

• **Test Citrate de Simmons**

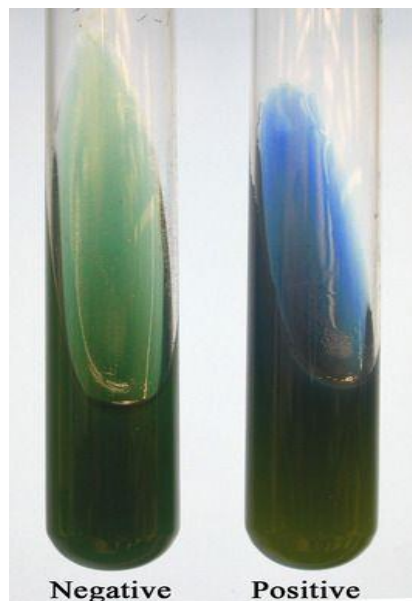
Ce test permet de vérifier si la bactérie testée est capable d'utiliser le Citrate comme seule source de carbone. Le milieu utilisé est le milieu Citrate de Simmons qui est sous forme d'un tube semi-incliné (**Delarras, 2000**).

❖ **Mode opératoire**

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

❖ **Lecture**

- Virage de l'indicateur du pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est Citrate de Simmons (+). **Fig. 31**
- Pas de virage de l'indicateur du pH : pas d'alcalinisation du milieu et la souche ne pousse pas, donc elle est Citrate de Simmons (-) (**Delarras, 2000**).



**Figure 31:** Lecture du test de Simmons

• **La galerie API**

La galerie API, commercialisée depuis la décennie 1970, est un système standardisé pour l'identification des bactéries ; elle est composée d'un nombre variable de micro tubes (10 ou

20 le plus souvent) contenant des substrats déshydratés qui permettent de réaliser des tests biochimiques (Delarras, 2007).

### ✚ La Galerie API 20E

La galerie API 20 E est un système d'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux **Fig. 32** (Leyral *et al.*, 1998).



**Figure 32:** Galerie API 20E

A partir d'une colonie bien isolée sur milieu gélosé, réaliser une suspension bactérienne dans une ampoule de suspension Medium (5 ml) ou dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité trouble (Leyral *et al.*, 1998).

- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leurs cupules de l'huile de paraffine.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation puis l'incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Après incubation, noter les résultats des réactions spontanées en se référant au tableau de lecture, puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (TDA, IND et VP).

L'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification.

### ✚ La galerie API 20 NE

#### ❖ Principe

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

La galerie API 20 NE comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux **Fig. 33** (Aouissi, 2010).



**Figure 33:** Galerie API 20 NE

#### ❖ Mode opératoire

L'opération s'effectue selon les étapes suivantes :

##### Préparation de la galerie

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

##### Préparation de l'inoculum

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

##### L'inoculation de la galerie

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO3 à PNPG.
- Les tests GLU, ADH, URE vont être complétés avec l'huile de vaseline.
- Remplir les tubes et les cupules des tests de IGLU à IPACI.

La boîte d'incubation est refermée et incubée à 37°C pendant 24h pour une première lecture et 48h pour une deuxième lecture.

#### ❖ Lecture et interprétation

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

#### 🚦 La galerie API Staph

La galerie API Staph est un système d'identification des genres *Staphylococcus* et *Micrococcus*.

**Fig. 34 (Leyral *et al.*, 1998).**





**Figure 34:** Galerie Api Staph

Préparer une suspension bactérienne homogène dans une ampoule d'API Staph Medium avec une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.

- Remplir les tubes de la galerie avec API Staph Medium ensemencé.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH et URE en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine.
- Renfermer la boîte d'incubation puis l'incuber à 35°C pendant 18 à 24 heures.

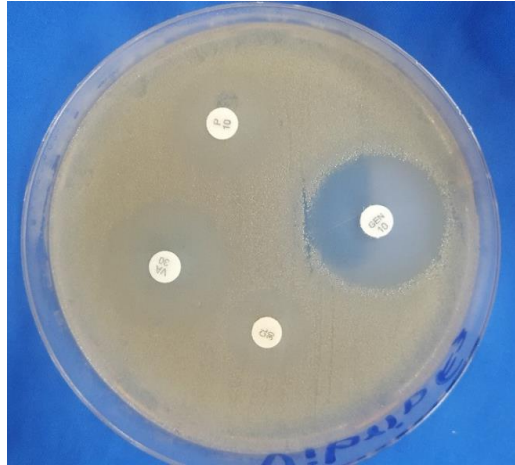
Après incubation, lire les réactions spontanées conformément au tableau de lecture ; ensuite, révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (VP, NIT et PAL). L'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification.

#### 5.4 L'antibiogramme

L'antibiogramme consiste à déterminer la sensibilité et/ou la résistance aux antibiotiques d'une bactérie isolée dans un prélèvement, et supposée être à l'origine d'un processus infectieux. Il s'agit donc d'une aide au choix du traitement adéquat proposé par le biologiste au clinicien.

**(Courvalin, 2006)**

La technique de réalisation d'un antibiogramme repose sur la diffusion de l'antibiotique en milieu gélosé déjà ensemencé par une suspension bactérienne. La diffusion en milieu gélosé permet de mesurer le diamètre d'inhibition de la croissance d'une bactérie autour d'un disque imprégné d'antibiotique et de les comparer à des diamètres critiques. Un antibiogramme ne se lit pas : il s'interprète. **(Jehl, 2012) Fig. 35**



**Figure 35:** L'antibiogramme (La diffusion en milieu gélosé).

❖ **Lecture**

Les résultats de la sensibilité étudiée pour chaque antibiotique sont exprimés par les 3 lettres « S » « R » et « I » dont les significations sont :

- « **S** » pour **SENSIBLE**. La dose habituelle nécessaire pour tuer la bactérie est administrable.
- « **R** » pour **RÉSISTANT**. La dose nécessaire pour tuer la bactérie est trop élevée pour être supportée.
- « **I** » pour sensibilité **INTERMÉDIAIRE**. L'efficacité de l'antibiotique sur la bactérie est imprévisible, le résultat obtenu n'étant pas prédictif d'un succès thérapeutique.

*Chapitre IV*  
*Résultats et*  
*Interprétations*

### 1. Résultats des analyses bactériologiques des boues étudiées

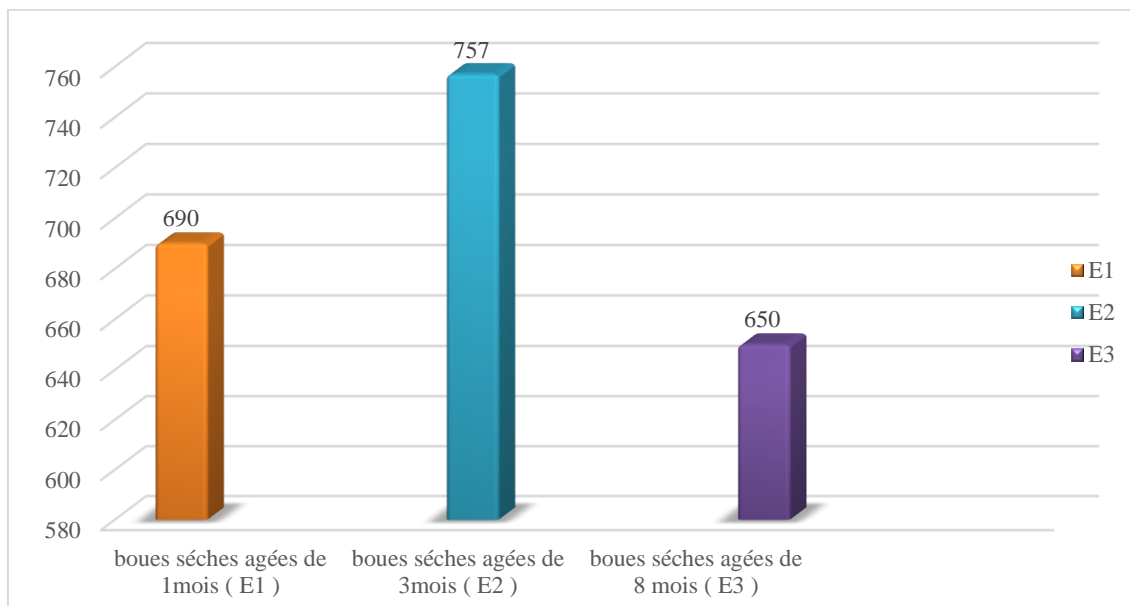
Les analyses bactériologiques des boues de la STEP de Guelma ont montré une grande variation en type et en nombre de bactéries. Les résultats obtenus sont présentés dans des tableaux et des histogrammes suivis d'interprétations.

**Tableau 2:** Résultats des analyses bactériologiques des boues étudiées.

Type de germes	Boues sèches (1 mois) Echantillon 1 (E1)	Boues sèches (3 mois) Echantillon 2 (E2)	Boues sèches (8 mois) Echantillon 3 (E3)
Germes totaux (UFC/l)	690	757	650
Coliformes totaux (CT/ml)	1100	1400	95
Coliformes fécaux (CF/ml)	1100	1400	95
Streptocoques fécaux (SF/ml)	4	25	4
Streptocoques groupe D	4	15	4
ASR (UFC/ml)	Indénombrable	Indénombrable	Indénombrable
Streptomyces (UFC/ml)	Indénombrable	Indénombrable	Indénombrable
Pseudomonas (UFC/ml)	400	240	276

## 1.1 Recherche et dénombrement des germes revivifiables à 37 °C

La flore mésophile aérobie totale est utilisée comme un indicateur de pollution globale. (Tabet, 2014).



**Figure 36:** Représentation graphique du nombre des germes totaux

D'après le graphe, les échantillons prélevés présentent une charge en microorganismes, avec comme valeur maximale 757 UFC/ml dans l'échantillon âgé de 3 mois et comme valeur minimale 650UFC/ml dans l'échantillon âgé de 8mois. Le nombre pour l'échantillon âgé d'un mois est de 690UFC/ml. **Fig.36**

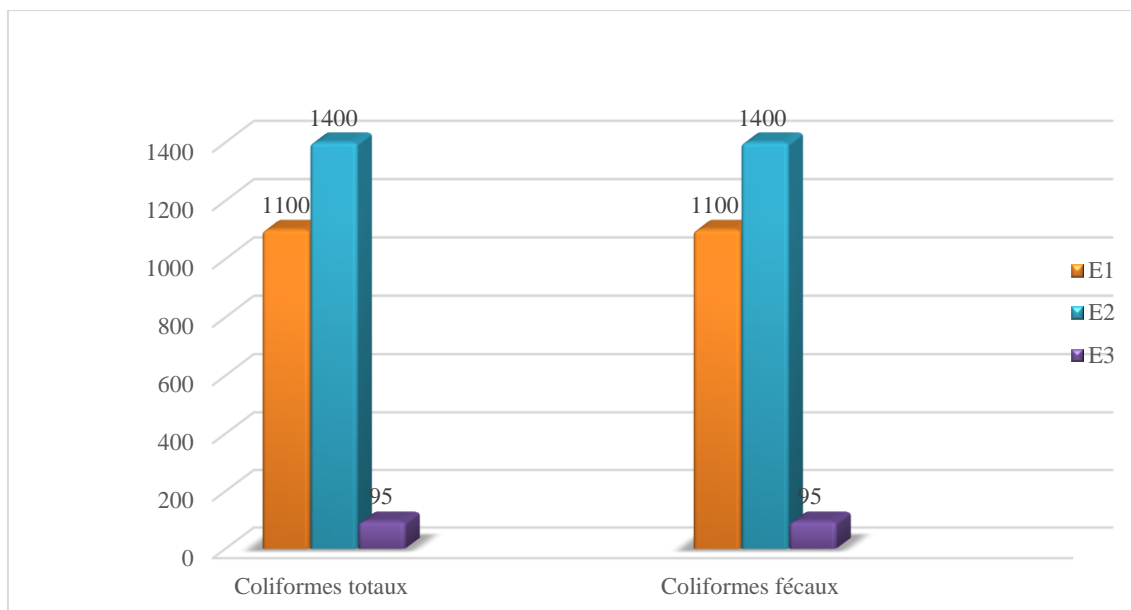
A partir de ces valeurs, on peut dire que l'âge des boues sèches a un effet sur la survie des bactéries qui présentent une certaine adaptation avec le milieu jusqu'à 3 mois ensuite on assiste à une chute dans le nombre des bactéries. Ceci est du vraisemblablement au temps et surtout à l'état des boues (boues sèches).

## 1.2 Recherche et dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale

### 1.2.1 Coliformes totaux et fécaux

La recherche des coliformes est primordiale du fait qu'un grand nombre d'entre eux vivent en abondance sur les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait constituent des indicateurs de première importance (Duffour, 1977).

La variation du nombre des bactéries dans les différents échantillons sont illustrés dans le **tableau 2** et la **figure 37**



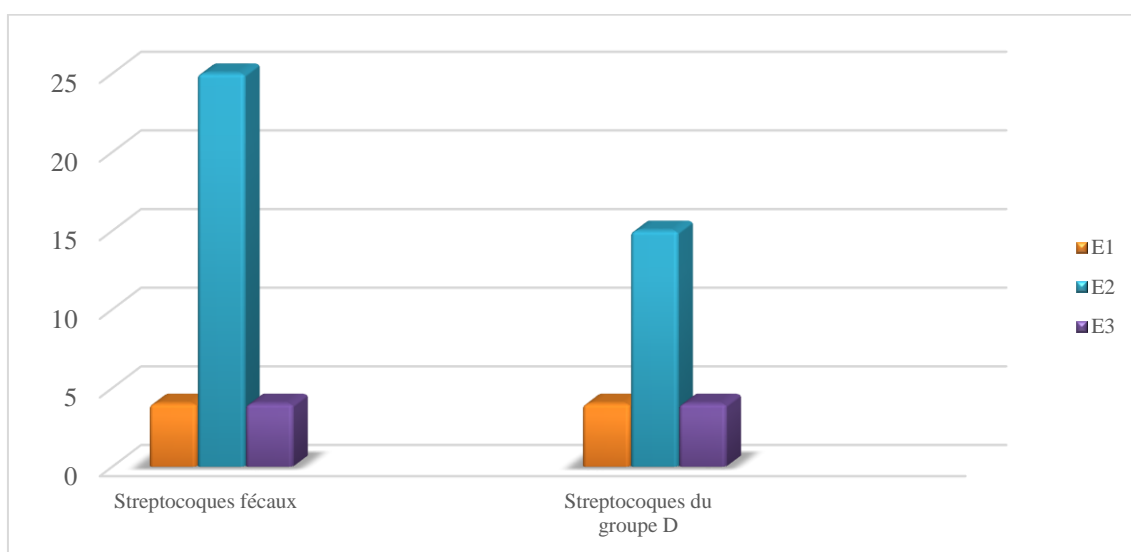
**Figure 37:** Représentation graphique du *Coliforme total* et *fécal*

L'examen de la figure montre que le nombre des coliformes totaux et fécaux est similaire, avec une évolution identique à celle observée avec les germes totaux, ce qui confirme le mode d'adaptation déjà suggéré précédemment.

### 1.2.2 Recherche et dénombrement des *Streptocoques fécaux*

Les streptocoques fécaux sont des excellents indicateurs de contamination récente par la matière fécale des animaux (**Rodier, 1996**).

Les résultats du dénombrement des Streptocoques fécaux et des groupes D sont présentés dans la **figure 38**



**Figure 38:** Représentation graphique des *Streptocoques fécaux*

Le graphe des Streptocoques fécaux et des Streptocoques du groupe D suit la même évolution que les présentations précédentes ce qui démontre une interprétation logique de l'adaptation et de l'évolution déjà suggérée.

### 1.2.3 Recherche et dénombrement des spores *Anaérobies sulfito-réducteurs*

Ces germes sont souvent considérés comme des témoins de pollution fécale. La forme spore, beaucoup plus résistante que les formes végétatives des coliformes fécaux et des streptocoques fécaux, permettent ainsi de déceler une pollution fécale ancienne ou intermittente (Rodier, 2009).

Les résultats des ASR dans les échantillons des boues sont représentées dans la **figure 39** qui montre une poussée importante de ce type de bactérie et ceci avec les 3 échantillons. Ce résultat peut être expliqué par une forte charge en contaminants d'origines fécales des eaux usées qui arrivent à la station et aussi une persistance de la présence de ces bactéries dans tous les échantillons malgré l'âge et l'état des boues en raison du caractère de résistance de ces bactéries aux conditions environnementaux (présence de spores).



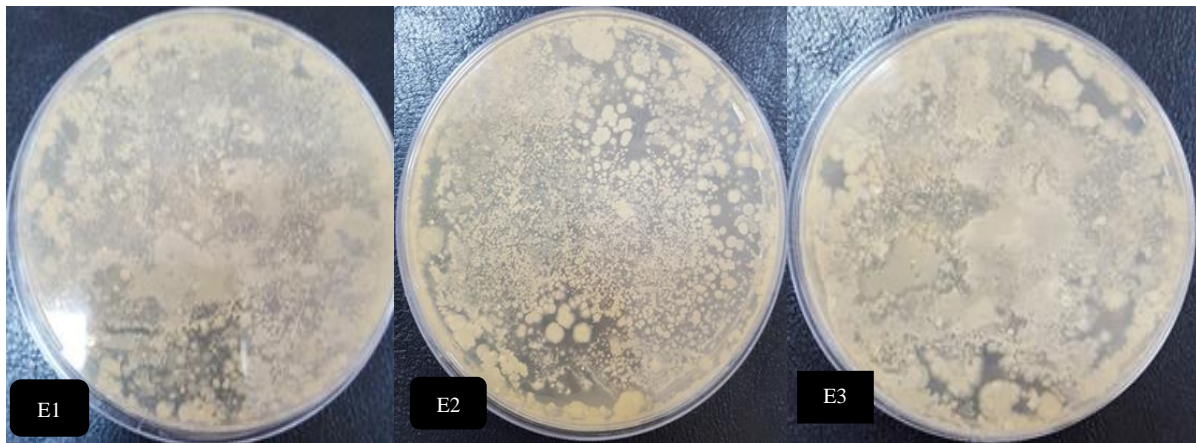
**Figure 39:** Résultats de la recherche des *Anaérobies sulfito-réducteurs* (ASR).

La présence des ASR indique la présence de sulfite de fer, qui provoque l'apparition des mauvaises odeurs (Rodier, 2005).

### 1.3 Recherche et dénombrement des *Streptomyces*

Pour ce type de bactéries, nous avons constaté une forte présence dans les 3 échantillons qui s'explique par le caractère de résistance de ces bactéries aux conditions environnementaux.

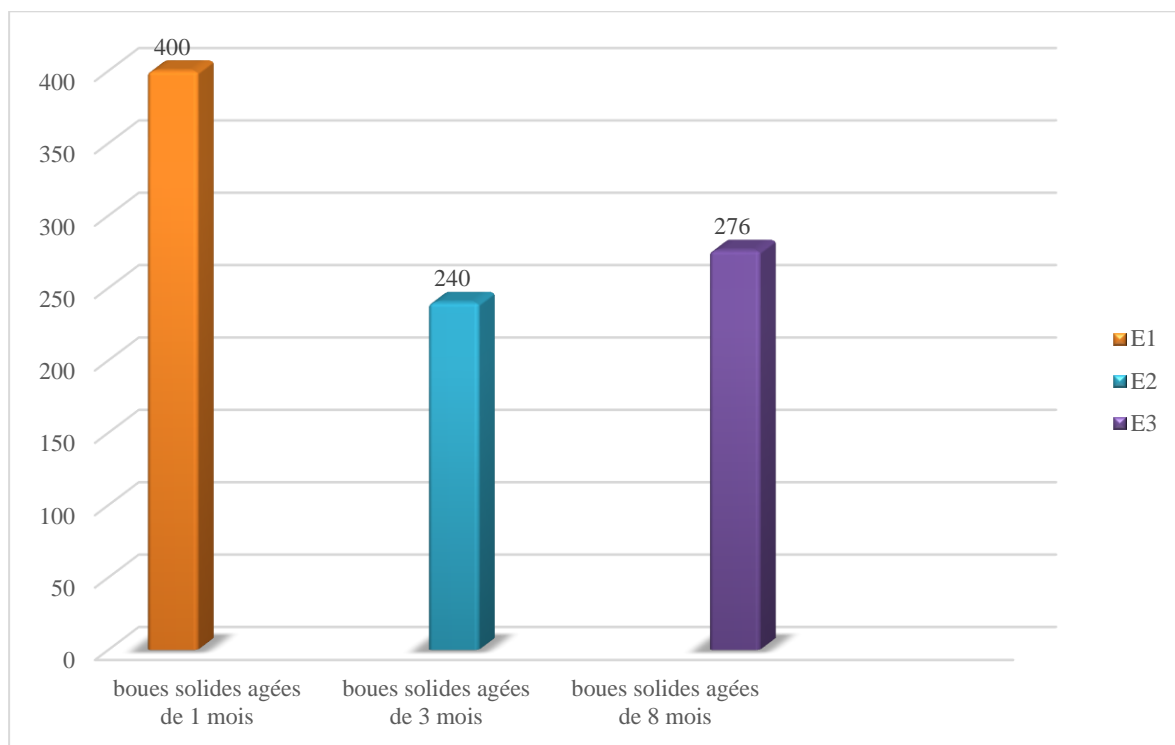
**Fig.40**



**Figure 40:** Résultats de la recherche des *Streptomyces*

## 1.4 Recherche des germes pathogènes

### 1.4.1 Recherche et dénombrement des *Pseudomonas*



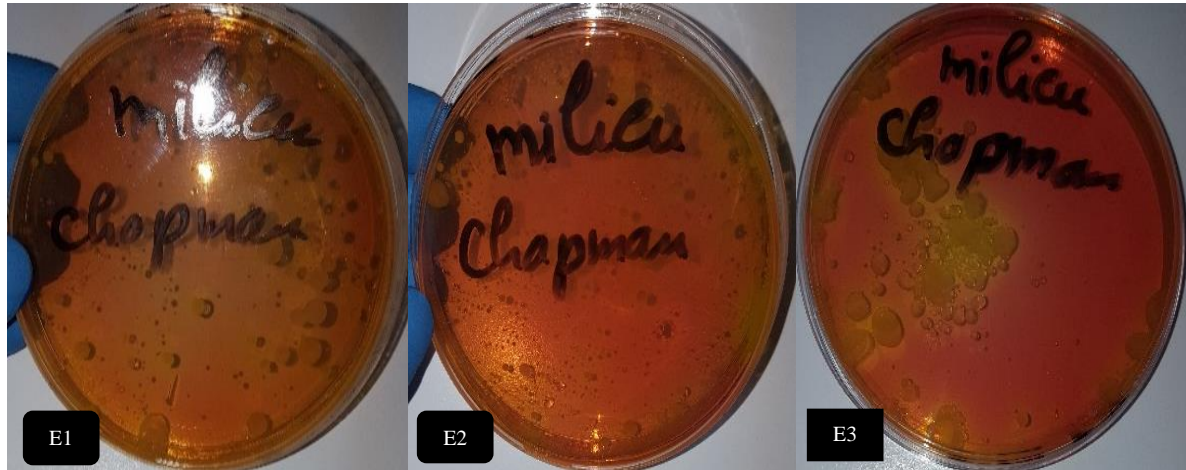
**Figure 41:** Présentation graphique de nombre de *Pseudomonas*

La **figure 41** montre que la valeur la plus élevée est présente au niveau de l'échantillon 1 (400UFC/ml) et la valeur minimale est présente au niveau d'échantillon 2 (240 UFC/ml), ensuite on assiste à une légère augmentation dans l'échantillon 3. Malgré cette dernière constatation, il est permis de dire que l'âge et l'état des boues influe sur la survie de cette bactérie.



### 1.4.2 Recherche des *Staphylocoques*

D'après les résultats obtenus, on observe une présence de ces germes dans les trois échantillons du boues étudiées. **Fig. 42**



**Figure 42:** Résultats de la recherche des *Staphylocoques*.

La présence des staphylocoques dans les boues est due à leur présence dans les eaux usées (déchets humains, déchets urbains, salive, crachat et sécrétions nasales etc...) (Marc, 1997). La présence des staphylocoques est un signe du risque sanitaire pour l'amendement des boues (Jacob *et al.*, 2002), la présence de ces bactéries nous donne une idée importante sur l'efficacité du traitement.



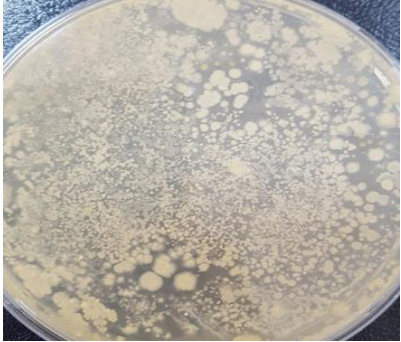
### 1.4.3 Recherche des *Entérobactéries*



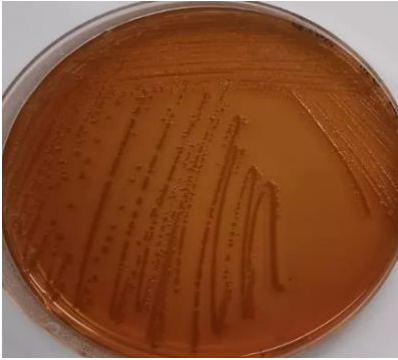

La recherche des entérobactéries a montré une absence totale des Salmonelles, des Shigelles et des Vibrio dans nos échantillons, par contre, nous avons constaté une forte présence d'autres genres bactériens appartenant à la famille des entérobactéries identifiés par l'utilisation des galeries biochimiques Api 20 E et Api 20 NE, présentés dans les figures **Fig. 47 à 53**.

## 2. Identification des bactéries isolées

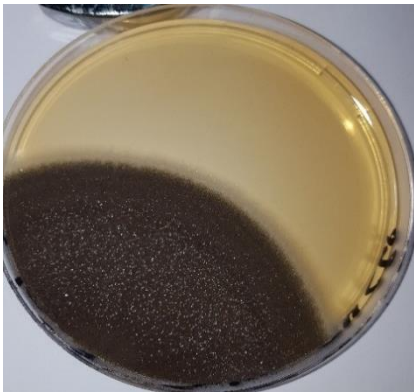
Deux étapes primordiales ont été suivies pour l'identification des germes pathogènes isolés, l'observation macroscopique et microscopique des colonies isolées suivie d'une identification biochimique par l'utilisation des API systèmes et autres tests. **Tab.3** et **Tab.4**.

**Tableau 3:** Résultats des observations macroscopiques.

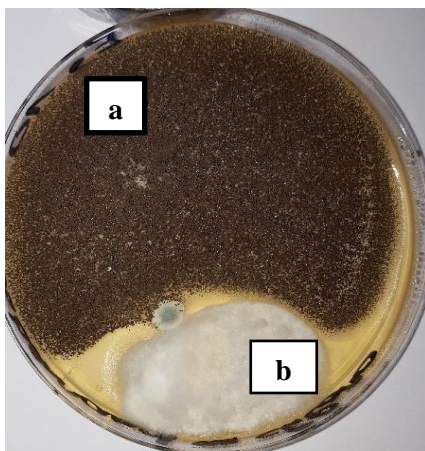
Aspet macroscopiques	
Culture	Caractéristiques
<p>Chapman</p> 	<p>-Colonies : petites, jaunes, rondes, lisses à contours irréguliers, opaques, translucides.</p> <p>-Colonies : grandes de 3 mm de diamètre, jaunes, muqueuses, bords irréguliers, opaques.</p> <p>-Colonies : petites, blanches, ronde, bombées, réguliers, opaques.</p>
<p>GNAB</p> 	<p>-Colonies : petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes</p>
<p>GELM</p> 	<p>-Colonies : rondes ; bords variables (réguliers et irréguliers) plates ou bombes, de couleur blanchâtre ou beige avec un aspect opaque</p>

<p style="text-align: center;">Cétrimide</p> 	<p>-Colonies : petites, incolores, circulaires, bombées, lisses, transparentes.</p>
<p style="text-align: center;">Hektoen</p> 	<p>-Colonies : petites, vertes, circulaires, bombées, lisses, opaques.</p> <p>-Colonies petites, marrons, irrégulières, bombées, lisses, opaques.</p>
<p style="text-align: center;">SS</p> 	<p>-Colonies : moyennes, petites, marrons, bombées, rondes, irrégulières, lisses opaques.</p>
<p style="text-align: center;">Sabouraud</p> 	<p>-Recto : Poudreuse blanche puis bleu vert</p> <p>-Verso : incolore</p>

E1



E1



E2



E3

- Recto : colonies d'abord blanches, puis jaunes, et en fin granuleuses noires.

-Verso : incolore a jaune pale.

a

-Recto : colonies d'abord blanches, puis jaunes, et en fin granuleuses noires.

-Verso : incolore a jaune pale.

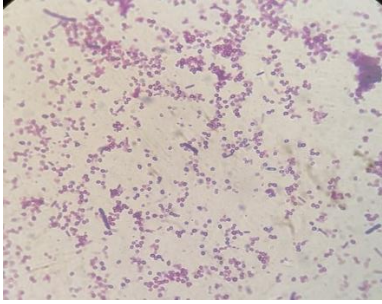
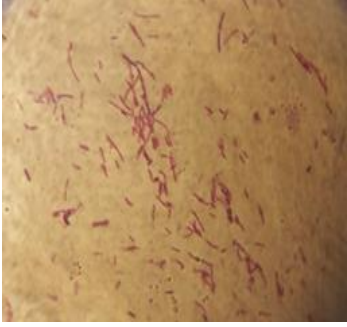
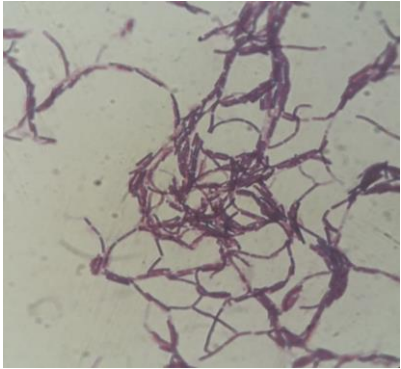
b

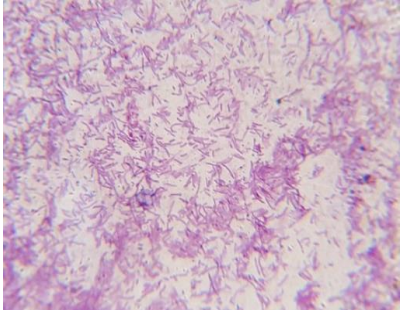
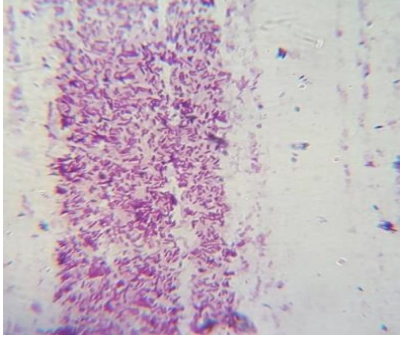
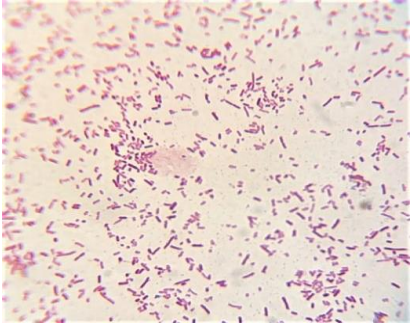
-Recto : Poudreuse blanche puis bleu vert

-Verso : incolore

-Bombées, poudreuse et blanchâtres. Elles sont lisses et peuvent se plisser en vieillissant.

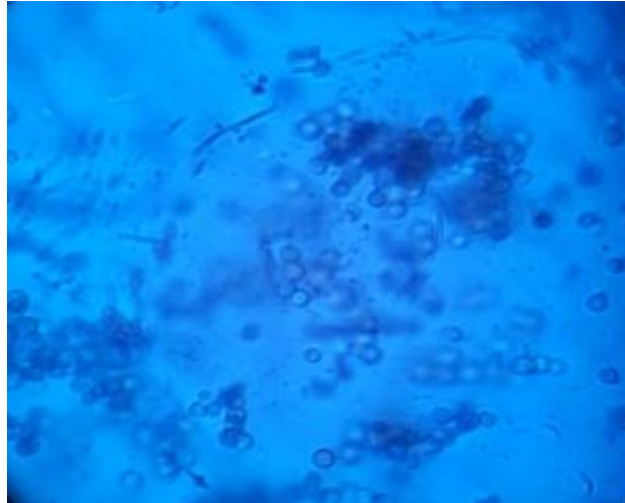
**Tableau 4:** Observations microscopiques et les tests complémentaires.

	Examen microscopique			Oxydase			Catalase		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
Chapman	Cocci gram (+) 			-	-	-	+	+	+
GNAB	Bacille gram (-) 			-	-	-	+	+	+
GELM	Gram + filamenteuse productrice des spores 						+	+	+

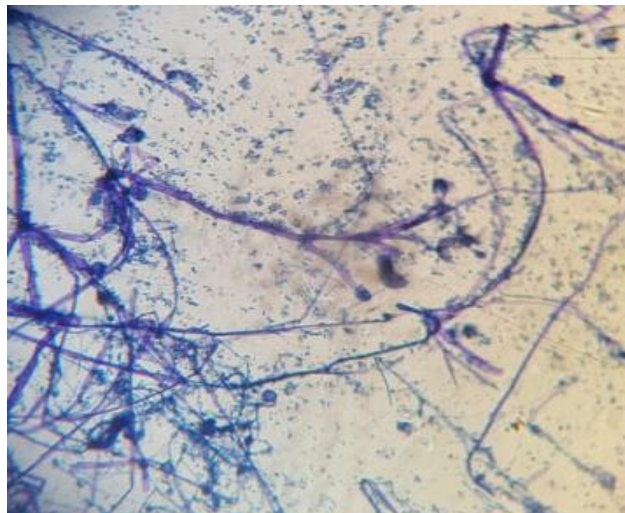
Citrimide	<p>Bacille gram (-)</p> 	+	+	+	/	/	/
Hektoen	<p>Coccobacille gram (-)</p> 	-	-	-	+	+	+
SS	<p>Bacille gram (-)</p> 	+	+	/	+	+	/

**2.1 Examen microscopique des levures**

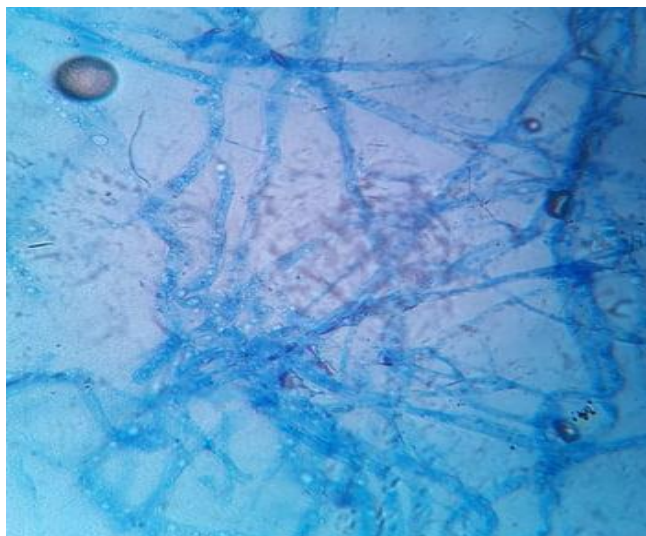
Les levures ont été observées à partir des colonies obtenues sur la gélose Sabouraud. L'observation a montré la présence des *Candida albicans*, des *Aspergillus niger* et des *Penicillium*, **Fig. 43, 44 et 45**. Cette identification est obtenue par confrontation aux images de ces espèces illustrées sur le document cahier de formation biologie médical (2002).



**Figure 43:** Aspect microscopique de *Candida albicans* (G× 40)



**Figure 44:** Aspect microscopique d'*Aspergillus niger* (G× 10)



**Figure 45:** Aspect microscopique de *Penicillium* (G×40)

2.2 Identifications biochimiques des espèces isolées

L'utilisation des galeries biochimiques Api 20E, Api 20NE, Api Staph nous a permis d'identifier les germes pathogènes annoncées dans les figures suivantes.

Milieu de culture	de	Api système	Espèce a identifiée	
Chapman		Api Staph	E2	E3
			<i>Staphylococcus heamolyticus</i>	<i>Micrococcus spp</i>



Figure 46: Profil biochimique de l'espèce *Staphylococcus heamolyticus*

Milieu de culture	Api système	Espèce a identifiée		
GNAB	Api 20 NE	E1	E2	E3
		<i>Burkholderia cepacia</i>		



Figure 47: Profil biochimique de l'espèce *Burkholderia cepacia*



Milieu de culture	Api système	King A/B	Citrate de Simmons	Espèce a identifiée		
				E1	E2	E3
Cétrimide	Api 20 NE	-	-	<i>Pseudomonas mendocina</i>		<i>Pseudomonas fluorescens</i>



Figure 48: Profil biochimique de l'espèce *Pseudomonas fluorescens*

Milieu de culture	Api système	Espèce a identifiée	
		E1	E2
SS	Api 20 E	<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>



Figure 49: Profil biochimique de l'espèce *Burkholderia cepacia*

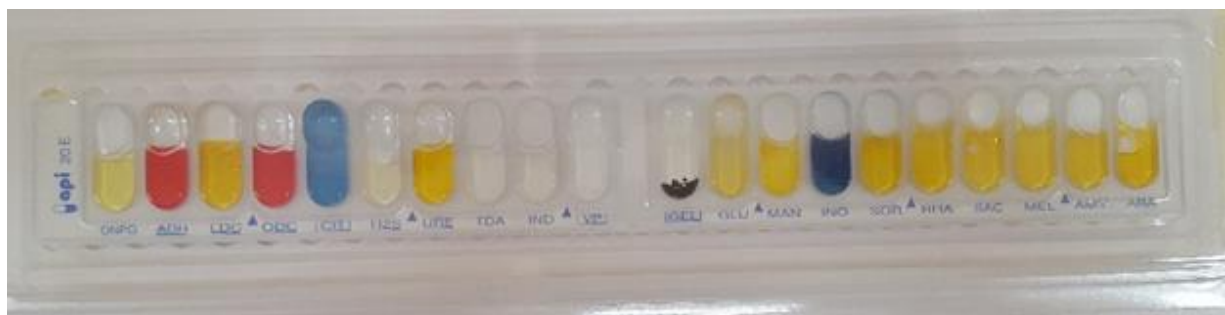


**Figure 50:** Profil biochimique de l'espèce *Chryseobacterium meningosepticum*

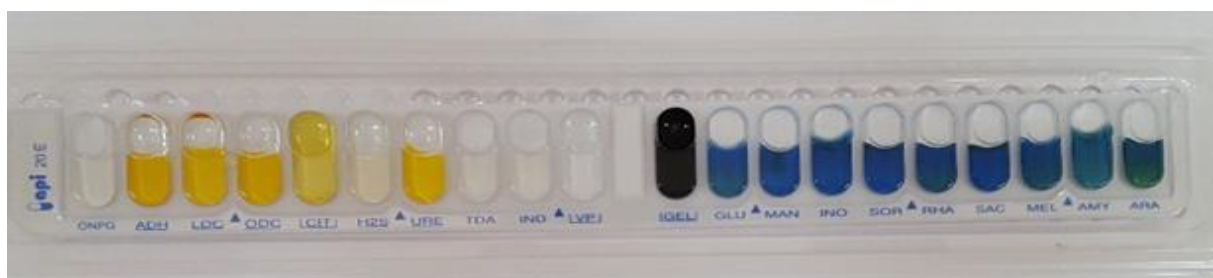
Milieu de culture	Api système	Espèce a identifiée		
		E1	E2	E3
Hektoen	Api 20 E	<i>Providencia alcalifaciens/rustigianii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>



**Figure 51:** Profil biochimique de l'espèce *Providencia alcalifaciens/rustigianii*



**Figure 52:** Profil biochimique de l'espèce *Enterobacter cloacae*



**Figure 53:** Profil biochimique de l'espèce *Proteus mirabilis*

A partir de l'ensemble des résultats d'identification biochimiques, il ressort une diversité bactérienne présente dans les 3 échantillons, avec une majorité de germes pathogènes qui ont comme origine les eaux usées traitées dans la station. Ceci témoigne d'une faible efficacité du procédé de traitement dans l'élimination de ces germes et/ou d'une résistance et une meilleure adaptation de ces germes aux conditions de stockage des boues.

### 3. Etude de la sensibilité et la résistance des bactéries isolées aux antibiotiques

**Tableau 5:** Résultats de l'antibiogramme.

Antibiotique	<i>Staphylococcus heamolyticus</i>	<i>Micrococcus spp</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	<i>Pseudomonas fluoresens</i>
Cl 30	0cm R	2cm S	0cm R	0cm R
C30	1,2 cm R	2,5cm S	0cm R	1,2cm R
F300	0cm R	2,3cm S	0cm R	0cm R
Va30	0cm R	2,6cm S	0cm R	0cm R
P10	0cm R	2cm R	0cm R	0cm R
E15	1cm R	3cm S	1,2cm R	1,2cm R
Gent 10	3,7cm S	3cm S	3,4cm S	4cm S

La sensibilité et/ou la résistance des bactéries isolées a été évaluée par l'utilisation de la technique de l'antibiogramme. Cependant, il est a noté que seulement quatre espèces (*Staphylococcus heamolyticus*, *Micrococcus spp* ; *Pseudomonas mendocina* et *Pseudomonas fluoresens*) ont été testées (les autres cultures montrée une contamination).

Les diamètres d'inhibition des antibiotiques par rapport à chaque espèce testée sont rapportés dans le **tableau 5**, **Fig. (54)**, **(55)**, **(56)** et **(57)**. Les bactéries sont classées en 3 catégories : résistante (R), intermédiaires (I) et sensible (S), (**Annexe IV**). Il s'avère que les quatre espèces

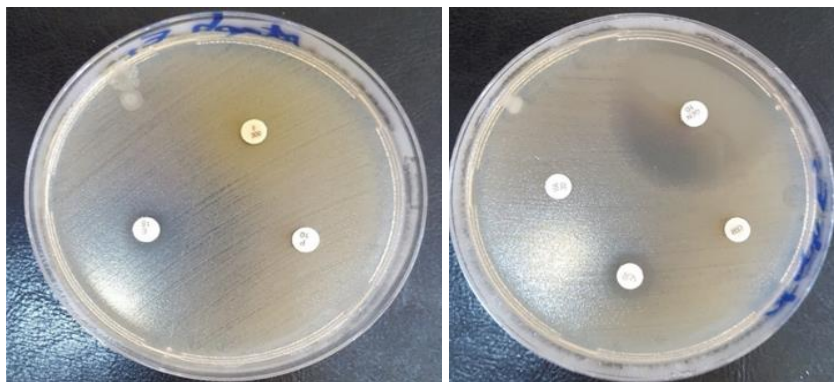
testées montrent une résistance marquée vis-à-vis de la pénicilline-G, et une sensibilité marquée vis-à-vis la gentamycine.

Nous constatons également que les *Staphylococcus heamoliticus*, les *Pseudomonas mendocina* et les *Pseudomonas fluorescens* présentent un comportement identique vis-à-vis des antibiotiques testés (résistance à tous les antibiotiques sauf la gentamycine ou elle présente une sensibilité). En revanche la bactérie *Micrococcus spp* montre une sensibilité à tous les antibiotiques testés sauf la pénicilline-G, une résistance).

Une étude analytique sur les boues, réalisée par **Benouareth et al, (2019)**, par l'utilisation du système SCIEX X500R QTOF, a montré l'existence d'environ 80 produits pharmaceutiques dans les boues prélevées de la STEP de Guelma, parmi ces produits les antibiotiques présentent une grande partie.

Dans nos résultats, les trois antibiotiques : chloramphénicol, cefaléxine et l'érythromycine ont présenté un effet identique sur les quatre espèces bactériennes testées, sachant que ces mêmes antibiotiques ont été déterminés dans les boues.

Le caractère de résistance des trois espèces (*Staphylococcus heamoliticus*, *Pseudomonas mendocina* et *Pseudomonas fluorescens*) est due probablement à un phénomène d'adaptation au milieu qui contient des antibiotiques.



**Figure 54:** *Staphylococcus heamoliticus*

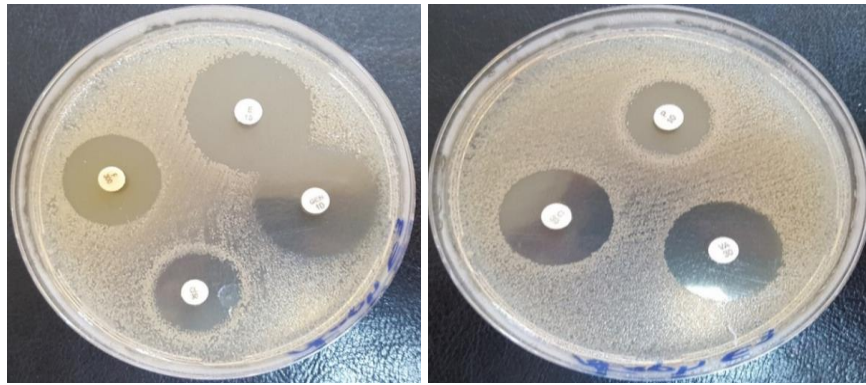


Figure 55: *Micrococcus* spp

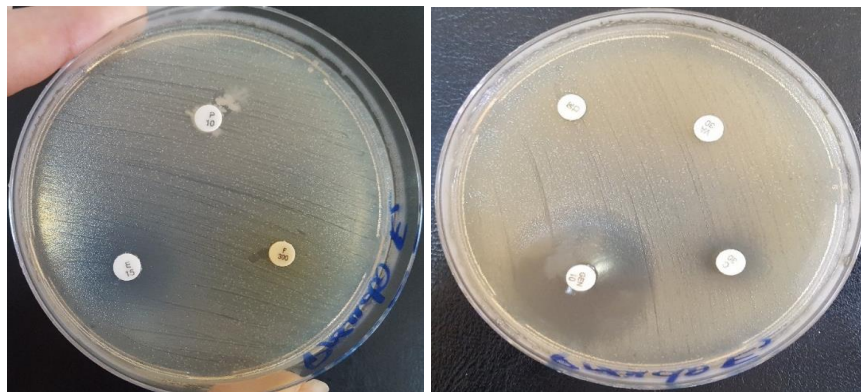


Figure 56: *Pseudomonas mendocina*

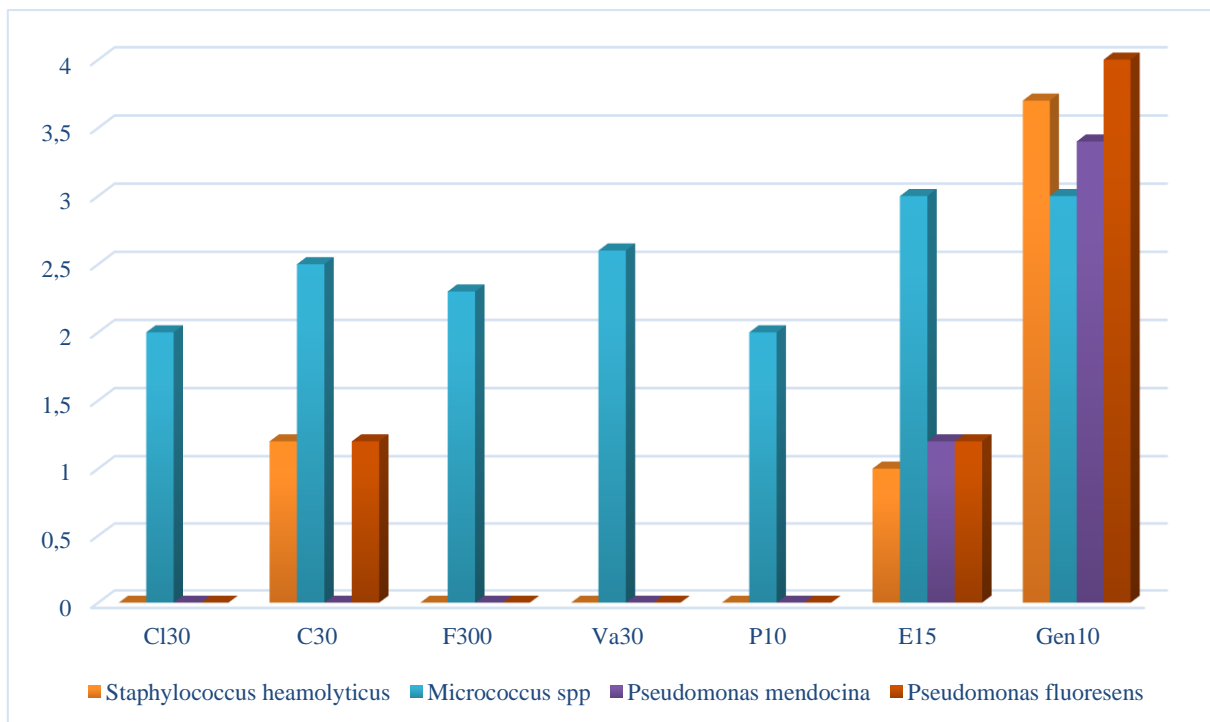


Figure 57: Résultats d'antibiogramme.



# *Discussion*

## **Discussion**

D'après **Shuval (1991)**, le système le plus efficace pour le traitement des eaux dans les stations d'épuration est l'utilisation des boues activées entraînant une réduction de 90 à 99,9% des bactéries.

La flore mésophile aérobie est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques, ainsi les concentrations élevées des bactéries enregistrées au niveau des boues sèches âgées de 3 mois par rapport aux boues âgées de 1 et 8 mois 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**). C'est ainsi que (**DUDLEY et al., 1980**), ont montré 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), ce qui explique les variations de la charge de la flore mésophile aérobie retrouvées dans les boues étudiées en fonction de la durée de stockage.

La forte charge des coliformes dans les boues sèches âgées de 3 mois peut être due à l'alimentation de celles-ci par des boues fraîches lors du traitement d'épuration ainsi que par la richesse de ces boues en matière organique, ce qui favorise le développement de ces germes, de plus, l'augmentation de la température dans les lits de séchage par rapport aux conditions des bassins de traitement et la réduction de la quantité d'oxygène (**Martin, 1997**). D'après **El Hachemi, (2005)**, les rayonnements UV peuvent avoir une action directe sur l'élimination des germes indicateurs par leur action photochimique, induisant des dommages dans le matériel génétique des cellules, et empêchant ainsi leur reproduction.

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, Durant les premières semaines de stockage, une activité microbienne est observée en raison d'une température modérée, mais avec les conditions hivernales, la température chuta et ne remonta pas au-delà de la température extérieure, même avec les meilleures conditions climatiques du printemps (**Jacob et al., 2002**).

La diminution de la concentration en streptocoques fécaux dans les boues âgées de 1 et 8 mois 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 diminue et donc réduction du métabolisme et du nombre des bactéries. L'origine de la contamination fécale est donc mixte animale et humaine avec une prédominance humaine selon **(Borrego, 1982)**.

Les anaérobies sulfito-réducteurs, ces bactéries reconnues par la résistance de leurs spores, les ASR réduisent les sulfites en sulfures, ces germes se trouvent dans les boues avec une forte concentration.

Les *Streptomyces* sont les principaux acteurs de traitement des eaux usées par les boues activées qui permettent la dégradation de la matière organique. Ces germes sont des bactéries saprophytes importantes dans le sol et ont un effet bénéfique important dans le domaine industriel et agroalimentaire. Cependant, elles constituent un problème majeur dans les réseaux de distribution par la formation des biofilms.

La différence quantitative des pseudomonas enregistrées dans nos échantillons peut être expliqué par la répartition non homogène des bactéries à l'intérieur du réseau de distribution présent sous forme de biofilm. La recherche des *Pseudomonases* a mise en évidence les espèces suivantes : *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas mendocina*.

L'identification des staphylococcus a montré la présence des *Staphylococcus heamolyticus* aux niveaux des boues âgées de 8 mois.

La recherche des entérobactéries a montré une absence totale des *Salmonelles*, des *Shigelles* et des *Vibrio* dans les boues étudiées. **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.

En ce qui concerne la recherche des levures dans le milieu Sabouraud, nous avons trouvé une forte charge des *Candida albicans*, des *Aspergillus niger* et des *Penicillium*.

En effet, Le stockage longue durée des boues est une alternative intéressante aux procédés visant à réduire les pathogènes **(AHMED, 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.



# *Conclusion*

## Conclusion

Cette étude a été menée dans le but d'étudier la qualité bactériologique des boues sèches prélevées de la station d'épuration de Guelma STEP. L'étude bactériologique réalisée (dénombrement et recherche des germes totaux, coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux, les ASR et la recherche de bactéries pathogènes), a permis d'évaluer un degré de contamination sérieux.

Les tests d'identification des bactéries isolées ont permis d'identifier les espèces suivantes : *Staphylococcus hemolyticus*, *Micrococcus spp*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia*, *Chryseobacterium meningosepticum*, *Providencia alcalifaciens/rustigianii*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*. La détection des espèces pathogènes dans les boues sèches est probablement liée à la richesse des boues en contaminants d'origine urbain et/ou hospitalier et aussi à la résistance de ces espèces au processus d'épuration.

L'étude microbiologique des boues sèches a montré une inefficacité du traitement effectué au niveau de la STEP de Guelma. Ce traitement conduit à l'augmentation de la flore contaminante (indicateurs de contamination fécale) et les bactéries pathogènes en dépit de la flore saprophyte (spécialement les Streptomyces) grâce à la température ambiante au niveau des lits de séchage et aux conditions statiques en plus de la présence de charges organiques importantes dans les boues.

De ce fait, il est préférable de passer, dans le procédé de traitement au niveau de la STEP, à un traitement à température plus élevée, d'augmenter la durée de stockage des boues (plus d'un mois) dans le but d'inactiver les germes pathogènes.

Pour un meilleur fonctionnement dans le traitement des eaux usées, et dans le but d'amoinrir la présence de polluants dans les boues, nous préconisons :

### 1- Traitement du foisonnement

Plusieurs modes d'action existent :

- Destruction du filament par addition d'agents oxydants (eau de javel, ozone).
- Augmentation de la taille des floes par ajout d'agents floculants (sels de fer et d'aluminium).
- Augmentation de la densité des floes par ajout d'agents lestants (polymère, talc, cendres...).

## 2- Traitement du moussage

Plusieurs solutions existent :

- Modification du taux de recirculation des boues et de l'âge des boues.
- Récupération et évacuation des mousses.
- Aspersions d'eau de javel en surface.

*Références*

*Bibliographiques*

A

- ✚ **Abouelouafa M., El Halouani H., Kharboua M., Berrichi A., (2002).** Caractérisation physico-chimique et bactériologique des eaux usées brutes de la ville d'Oujda : canal principal et oued bounaïm, *acte édition*, rabat, vol 22 (23), 143-150.
- ✚ **A.D.E.M.E, (2001).** Les boues chaulées des stations d'épuration municipales : production, qualité et valeur agronomique, Ademe édition, paris, pp. 224.
- ✚ **Adjagodo A., Agassounon Djikpo Tchiboza N., Agbossou A., Vissin E. et Agbossou E. 2017.** Pollution physique et bactériologique de l'eau du fleuve dans la basse vallée de l'Ouémé pendant les périodes de basses et hautes eaux au Bénin. *European Scientific Journal*, ESJ .13 (33). 167-186.
- ✚ **Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (1999).** Situation du recyclage agricole des boues d'épuration urbaines en Europe et dans divers autres pays du monde, Ademe édition, paris, pp. 159.
- ✚ **Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (2001).** Les boues d'épuration municipales et leur utilisation en agriculture, Ademe édition, paris, pp. 59.
- ✚ **Ahmed A.U., Sorensen D.L., (1995).** Kinetics of pathogen destruction during storage of dewatered biosolids. *Water Environ. Res.*, 67,143-150.
- ✚ **Aissam H., (2003).** Etude de la biodégradation des effluents des huileries (margines) et leur valorisation par production de l'enzyme tannase. Thèse de doctorat, université sidi Mohammed Ben Abdellah, faculté des Sciences Dhar El Mehraz, Fes, 182p.
- ✚ **Albrecht R., (2007).** Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts : nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique, thèse de doctorat. In : *ecologia mediterranea*, tome 32,2006. Pp. 96-97, 190p.
- ✚ **Altmeyer N., Abadia G., Schmitt S., Leprince A., (1990).** Risques microbiologiques et travail dans les stations d'épuration des eaux usées. *Medico technique*. Paris. 384p.
- ✚ **Amadou H., (2007).** Modélisation du séchage solaire sous serre des boues de stations d'épuration urbaines. Thèses de doctorat, université louis pasteur, Strasbourg, France, 221p.
- ✚ **Aouadi H., (2007).** Le procédé de traitement biologique par boues activées, mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en génie biologique, université 8 mai 1945 de Guelma, Algérie. 50p.
- ✚ **Aouissi A., (2010).** Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (nord-est de l'Algérie). Présenté en vue de l'obtention du diplôme de magister. Université 8 mai de Guelma, Algérie.164p.

- ✚ **Arrêté du 8 janvier (1998).** Fixant prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles pris en application du décret n° 97-1133 du 8 décembre 1997 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées. Journal officiel du 31-01-1998, 1563-1571. France.
- ✚ **Aussel H., Le Bâcle C., Dornier G., Galtier Y., (2004).** Le traitement des eaux usées. Institut national de recherche et de sécurité, fiche technique, Cedex, France, 4p.

## **B**

- ✚ **Benoît P., Brugère H., Casellas M., Dabert P., Fuchs J., Giamberini L., Patureau D., Pons M.N., Pourcher A.M., (2014).** Caractéristiques physico-chimiques et biologiques des mafor, rapport final de l'ESCO "matières fertilisantes d'origine résiduaire". 249 p.
- ✚ **Benouareth D.E., Khallef M., Bounar C., Montemurro N., Pérez S., Barceló D., (2019).** Pharmaceuticals in Algerian wastewater sludge: the case of the wastewater treatment plant in Guelma's city. The 2nd International Conference on Risk Assessment of Pharmaceuticals in the Environment (ICRAPHE). Barcelona, 28-29 November.
- ✚ **Berland J., Boutin C., (2001).** Procédés extensifs d'épuration des eaux usées.44p.
- ✚ **Blondeau F., (1985).** Traitement centralisé des boues t.s.m l'eau, n°6, juin pp 231-242.
- ✚ **Boeglin J.C.L., (2001).** Traitements et destinations finales des boues résiduaire ingénieur chimiste. Thèse d'INGE., ipi, Colmar, France, 26 p.
- ✚ **Borrego AF, Romero P., (1982).** Study of the microbiological pollution of a Malaga littoral area II. Relationship between fecal coliforms and fecal streptococci. VIè Journée Étude Pollutions, Cannes, France, 561-569.
- ✚ **Bouchaala L., (2010).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et physicochimique de l'eau de l'Oued-Zénati (Guelma). Mémoire de magister. Université 8 mai 1945 de Guelma, Algérie, 135p.
- ✚ **Bouziani M., (2000).** « L'eau de la pénurie l'eau de la pénurie aux maladies ». Edition Ibn - Khaldoun, Oran, Algérie, 247p.

## **C**

- ✚ **Cahier de formation bioforma. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. N°25, pp.161.
- ✚ **Canler J.P., Perret J.M., Duchène P., Cotteux E., (1999).** Aide au diagnostic des stations d'épuration par observation microscopique des boues activées, Cemagref éditions, paris.
- ✚ **Canler, J. P. (2005).** FNDAE n°33 : Dysfonctionnements des stations d'épuration : origines et solutions, CEMAGREF : 63.

- # **Canler J.P., Perret J.M., (2013).** La réduction de boues par voie biologique par le procédé myc et unité de recherche milieux aquatique, écologie et pollutions centre de lyon.51 p.
- # **Carbonnelle D. Kouyoumdjian S., (1988).** Bactériologie médicale techniques usuelles. *Méd. Mal. Inf.* 251 p.
- # **Cardot C., (1999).** Les traitements de l'eau, procédés physico-chimiques et biologiques, Ellipses Edition marketing S.A.
- # **Cindy B., (2007).** Procède à boues activées pour le traitement d'effluents papetiers : de la conception d'un pilote a la validation de modèles, thèse pour obtenir le grade de docteur de l'INP Grenoble, institut national polytechnique de Grenoble. 227p.
- # **Collection OTV (omnium de traitement et de valorisation), (1997).** Traiter et valoriser les boues. Collection n°2, edition technique et documentation. Lavoisier, paris .457p.
- # **Comité national des boues (CNB), (2001).** Les boues d'épuration municipales et leur utilisation en agriculture collection « valorisation agricole des boues d'épuration ». Ed. Ademe. France.
- # **Courvalin P., Leclercq R., Bingen E., (2006).** Antibiogramme. Paris : édition ESKA.

## D

- # **Daloz A., (2007).** L'épuration des eaux usées par les filtres plantés de macrophytes. Mémoire de fin d'étude. Ecole nationale supérieure d'architecture de Lyon, 26p.
- # **Dawes E.A., Senior P.J., (1973).** Energy reserve polymers in microorganisms, *adv. Microbiol. Physiol.*, 10 : 135-266.
- # **Délarras C., (2000).** Microbiologie de l'environnement avec législation Gaëtan Morin editeur.223p.
- # **Délarras C., Trebaol B., (2003).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : réglementation - prélèvements - analyses. Tec & doc, 269p.
- # **Delarras C., (2007).** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire.* Tec & doc/Lavoisier. Paris. 476 p.
- # **Délarras C., (2008).** Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : règlementation-prélèvements-analyses. *Tec & doc.*269p.
- # **Dudkowski A., (2000).** L'épandage agricole des boues de stations d'épuration d'eaux usées urbaines. Courrier de l'environnement de l'INRA, pp. 134-135.
- # **Duffour A.P., (1977).** E. coli: the faecal coliform. 4 8–58. In hoadely a.w. And b.j.dukta. (EDS). Durand, 1952.



- ✚ **Dudley D.J., Guentzel M.N., Ibarra M.J., Moore B.E., Sagik B.P., (1980).** Enumeration of potentially pathogenic bacteria from sewage sludges. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39, 118-126.
- ✚ **Durban N., (2015).** Traitement du foisonnement filamenteux induit par *Microthrix parvicella* par ajout de sels métalliques : impact sur les boues activées. Thèse de doctorat. L'institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Antony Cedex. France. 222p.

## E

- ✚ **Echab A., (1998).** Réutilisation des boues de stations d'épuration des eaux usées en agriculture : impact des métaux lourds. Thèse 3e cycle, univ. Cadi ayyad, fac. Sci. Semlalia, marrakech, maroc, p. 80-83 (141 p.).
- ✚ **Edeline F., (1997).** L'épuration biologique des eaux. Théorie et technologie. Edition Cebedoc, 298p.
- ✚ **Eikelboom D.H., (1975).** Filamentous organisms observed in activated sludge, *water res.*, 9:365-388.
- ✚ **Elhachemi M. Er., (2005).** Association de l'Ozone, des ultraviolets et des ultrasons pour le traitement d'effluents à forte charge organique, Thèse de Doctorat, Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Chambéry, Université de Savoie, 135p.
- ✚ **Elissalde N., Ganiere J.P., L'hostis M., (1994).** Les germes pathogènes dans les boues résiduelles des stations d'épuration urbaines. Collection valorisation agricole des boues d'épuration, Connaître pour agir, Guides et cahiers techniques, 87 p.

## F

- ✚ **Findlay C.R., (1972).** The persistence of Salmonella dublin in slurry in tanks and on pasture. *Vet. Rec.*, 91, 233- 235 p.
- ✚ **Freney J., renaud F., hansen W., Bollet C., (2000).** *Bactériologie clinique*. ESKA. Paris. 1692 p.

## G

- ✚ **Gaid A., (1984).** Epuration biologique des eaux usées urbaines. Tome i, office des publications universitaire, alger,1,261p.
- ✚ **Gillespie S. H., Hawkey P. M., (2006).** Principles and practice of clinical bacteriology. 2éme edition. John Wiley & sons. England. 620 p.
- ✚ **G.I.S mousse (1993).** Guide de lutte contre les mousses biologiques stables dans les stations d'épuration à boues activées. Document technique FNDAE.

- ✚ **Grosclaude G., (1999).** L'eau : usages et polluants. Tome ii, 4èmeed, INRA, paris,216p.
- ✚ **Guenifi A., Guemihi, (2008).** L'identification des microorganismes (streptomyces). Mémoire de fin d'études. Université de Guelma, 45p.
- ✚ **Guezlane T.N., Kahlouche B., Athmani G.S., (2008).** *Microbiologie : travaux pratiques.* Office des publications universitaire. Alger. 144 p.
- ✚ **Guide, (2010).** Procédés extensifs d'épuration des eaux usées Luxembourg : office des publications officielles des communautés européennes, 44p.
- ✚ **Guiraud J. Pierre., (1998).** Microbiologies alimentaires. Ria dunod.696p.

## H

- ✚ **Hassine K., Hamza R., (2004).** Les risques liés aux éléments biologiques et minéraux des eaux usées urbaines. Agence nationale de contrôle sanitaire et environnemental des produits-Tunis. 20p.

## J

- ✚ **Jacob B., Korsak N., Grooven B., Flament E., Daube G., (2002).** Incidence d'une station d'épuration biologique sur le niveau de contamination en salmonelles des eaux et des boues résiduaires. Méd. vét, 146, 303-310.
- ✚ **Jamonet B., (1987).** Le traitement des boues résiduaires. Université des sciences et technique du languedoc. Montpellier.
- ✚ **Jenkins D., Richard M. G., Daigger G. T., (2004).** Manual on the causes and control of activated sludge, bulking, foaming, and other solids separation problems, crc press Taylor & Francis group.

## K

- ✚ **Karoune S., (2008).** Effets des boues résiduaires sur le développement des semis du chêne liège (*quercus suber l.*). Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en écologies végétale. Université Mentouri Constantine. 198p.
- ✚ **Kéléké S., julien H., Audrey L., Raber W., (2004).** Evaluation de la salubrité de l'eau des puits dans la ville de pointe noire étude bactériologique et chimique. Université libre de bruxelle.66p.
- ✚ **Koller E., (2004).** Traitement des pollutions industrielles eau, air, sols, boues. Ed 2004, pp 4-22.

## L

- ✚ **Lachassagne D., (2014).** Devenir de micropolluants présents dans les boues d'épuration, du traitement à l'épandage agricole : application aux micropolluants métalliques (cd, cu) et organiques (médicaments) issus du traitement biologique conventionnel d'effluents urbains ou hospitaliers. Ingénierie de l'environnement. Université de limoges, française. 202 p.
- ✚ **Lassée C., (1985).** Analyse des boues tome1, généralité et analyse physique : étude synthèse.
- ✚ **Lassée C., (1985).** Analyse des boues A.F.E.E. Tome1 ; 137p, tome2 ; 127p.
- ✚ **Laville J., Barnat S., (2001).** Les boues d'épuration. Document de synthèse. Comité sécurité alimentaire d'aprifel. 43 p.
- ✚ **Lebres E., (2002).** Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments « microbiologie des eaux, des boissons et des produits de la mer ». Institut pasteur d'Algérie. 34 p.
- ✚ **Lebres E., (2006).** Cours d'hygiène et de microbiologie des eaux (manuel de travaux Pratiques des eaux). *Institut pasteur d'Algérie*. 60p.
- ✚ **Lebres E., Mouffok F., (2008).** Le cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel des travaux pratique des eaux. Institut pasteur d'Algérie. 53p.
- ✚ **Leyral G., Joffin J. N., (1998).** Microbiologie technique. *Centre régional de documentation pédagogique (CRPD) d'aquitaine, 2emeédition*. 249-297.

## M

- ✚ **Madigan M., Martink J., (2007).** Brock - biologique des micro-organismes : « traitement des eaux usées et purification de l'eau, maladie microbienne d'origine hydrique », 11émeédition, Pearson éducation France, paris, 1088p.
- ✚ **Marc St M., (1997).** Impacts des boues d'épuration sur la microflore des sols, développement d'une méthode de détection microbienne pour des échantillons de sol. Mémoire de l'université de Sherbrooke, 184p.
- ✚ **Marcel M., Pastor F., (2012).** L'assainissement des eaux usées en agglomération parisienne : principes et procédés. Livret pédagogique. La cité de l'eau et de l'assainissement-colombes syndicat interdépartemental pour l'assainissement de l'agglomération parisienne, paris.92p.
- ✚ **Metahri M.S., (2012).** Élimination simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées, par des procédés mixtes. Cas du step est de da ville de Tizi-Ouzou. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie, 172p.

- ✚ **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.
- ✚ **Mininni G., Sbrilli A., Guerriero E., Rotatori M., (2004).** Dioxins and furans formation in pilot incineration tests of sewage sludge spiked with organic chlorine. *Chemosphere* 54, 1337–1350.
- ✚ **Moulins., Rozen D., Milena S., (2013).** Traitement des eaux usées, 13p.
- ✚ **Murillo M., (2004).** Caractérisation de l'effet d'un traitement au peroxyde d'hydrogène sur une boue - application la réduction de la production de boue', thèse de doctorat, insa Toulouse.

## N

- ✚ **Nakib M., (1986).** Contribution à l'étude des possibilités d'utilisation des eaux usées et des boues d'épuration en agriculture thèse de Magistère.INA, Alger, 81p.
- ✚ **Navoun S., (2005).** Thermorésistante de trois sérotypes de salmonella dans l'œuf et les gésiers de poulets. Université Cocody d'abidjan.87p.

## O

- ✚ **Office nationale d'assainissement (ONA), (2004).** Souk-Ahras.
- ✚ **O.P.E.C.S.T., (2001).** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, par Miquel g. Rapport n°261.pp100-261.

## P

- ✚ **Pandolfi D., (2006).** Caractérisation morphologique et physiologique de la biomasse des boues activées par analyse d'images : autre. Institut national polytechnique de lorraine, français.167p.
- ✚ **Parker D. S., Kaufman W. J., Jenkins D., (1971).** "physical conditioning of activated sludge floc." *journal of the water pollution control federation* 42(9): 1817-1833.
- ✚ **Pechère J. C., Acar J., Grenier B., Nihoul E., (1982).** Reconnaître, comprendre et traité les infections. 4ème édition. *Edisem st-hyacinthe. Québec.* 509p.
- ✚ **Pilet C., Bourdon J. L., Toma B., Marchal N., Balbastre C., Person J. M., (1987).** Bactériologie médicale et vétérinaire. *Systématique bactérienne.* Doin. France. 371 p.
- ✚ **Pourcher A., (1991).** Contribution à l'étude de l'origine (humaine ou animale) de la contamination fécale des eaux de surfaces. Thèse de doctorat. Université des sciences et techniques de Lille Flandres Artois. 177 p.

## R

- ✚ **Rahman M.M., Rahman M.A., Haque M.M., Rahman A., (2019).** Sustainable water uses in construction, in: sustainable construction technologies. Butterworth-heinemann. U. K. Pp.211-235.
- ✚ **Raweh S., Belghyti D., Al-Zaemey A., El Guamri Y. et Elkharrim K. 2011.** Qualité physico-chimique des eaux usées de la station d'épuration de la ville de S'anaa (Yémen). International Journal of Biological and Chemical Sciences. 1-10 p.
- ✚ **Rejesk F., (2002).** « Analyse des eaux ; aspects réglementaires et techniques » ; centre régional de documentaires techniques pédagogique d'aquitaine (CRDP). Bordeaux. 358p.
- ✚ **Renou S., (2006).** Analyse de cycle de vie appliquée aux systèmes de traitement des eaux usées. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de lorraine. France.285p.
- ✚ **Rodier, J., Bazin, C., (1996).** Analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires. 8ème édition, Dunod paris. 1130p.
- ✚ **Rodier J., (2005).** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8ème, édition. Dunod, paris. 1434p
- ✚ **Rodier J.C., (2009).** L'analyse de l'eau : eau naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer.9ème édition. Dunod. Paris.1579p.

## S

- ✚ **Salh M., (2003).** Procède couplés aux boues activées-ozonisation pour la réduction dans la production de boues : étude modélisation et intégration dans la filière de traitement des eaux'. Thèse de doctorat, INSA Toulouse.
- ✚ **Salghi R., (2001).** Différentes filières de traitement des eaux, Ed Univ Ibn Zohr rabat, p.22.
- ✚ **Seviour J.R, Mino T., Onuki M., (2003).** The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems, *fems microbiol. Rev.*, 27: 99-127.
- ✚ **Shuval H.I., (1991).** Effect of wastewater irrigation of pastures on the health of farm animals and humans. Rev. -Off. Int. Epizoot, 10, 847-866.
- ✚ **Soddell j., Seviour R., (1996).** Growth of an activated sludge foam-forming bacterium, *nocardia pinensis*, on hydrophobic substrates, *water sci. Technol.*, 34:113-118.
- ✚ **SPDE., (2006).** Syndicat professionnel des entreprises de services d'eau et d'assainissement.
- ✚ **St-Martin M., (1997).** Impacts des boues d'épuration sur la microflore des sols, développement d'une méthode de détection microbienne pour des échantillons de sol et

différenciation des espèces *Streptomyces caviscabies* et *Streptomyces scabies*. National Library of Canada, Bibliothèque nationale du Canada, Ottawa.

- ✚ **Suh Y.J., Roussaux P., (2002).** An Lca of alternative waste water sludge treatment scenarios', resources, conservation and recycling, vol. 35, pp. 191 – 200.
- ✚ **Sykes J.E., (2014).** Nocardiosis, in: canine and feline infectious diseases. Elsevier, pp. 409–417.

## T

- ✚ **Tabet M., (2014).** Etude physico-chimique et microbiologique des eaux usées et évaluation du traitement d'épuration. Thèse de doctorat. Université 08 mai 1945.guelma.161p.
- ✚ **Tandoi V., Jenkins D., Wanner J., (2006).** Activated sludge separation problems, iwa.
- ✚ **Tauzin C., juste C., (1986).** Effet de l'application à long terme de diverses matières fertilisantes sur l'enrichissement en métaux lourds des parcelles. Rapport du contrat 4084/93. Ministère de l'environnement, France.
- ✚ **Telli S., (2013).** Etude sur la valorisation par séchage solaire des boues d'épuration des eaux urbaines – cas de la station d'office nationale d'assainissement (ona)- Tlemcen. Mémoire pour l'obtention du diplôme du master génie énergétique et environnement. Université Abou bekr Belkadi – Tlemcen, Algérie, 164p.

### ✓ Sites web

- [1]<https://www.elwatan.com/pages-hebdo/magazine/eaux-usees-ce-quon-pourrait-en-faire-23-01-2020> consulté le 21/06/2021.
- [2] Fondation de l'Eau Potable Sûre. Traitement des eaux usées. [safewater.org](http://safewater.org). Consulté le 22/06/2021
- [3][4] <https://www.suezwaterhandbook.fr/procedesettechnologies/pretraitements/degrillage-tamissage-dilaceration/degrillage> Consulté le 21/06/2021.
- [5]<https://industrie.airliquide.fr/neutralisation-du-ph-eaux-usees-industrielles-comment-fonctionnent-systemes-dinjection-gaz> Consulté le 21/06/2021.
- [6][https://www.researchgate.net/figure/Schema-de-principe-du-processus-de-flottation-par-air-dissous\\_fig2\\_327881715](https://www.researchgate.net/figure/Schema-de-principe-du-processus-de-flottation-par-air-dissous_fig2_327881715) Consulté le 21/06/2021.
- [7][8][9][https://charenteeaux.fr/wpcontent/uploads/2018/04/Les\\_principaux\\_types\\_de\\_station\\_de\\_traitement.pdf](https://charenteeaux.fr/wpcontent/uploads/2018/04/Les_principaux_types_de_station_de_traitement.pdf) Consulté le 21/06/2021.
- [10]<https://abonne.lardennais.fr/id124970/article/2020-01-21/le-plan-depandage-des-boues-de-charleville-mezieres-conteste-par-le-syndicat> Consulté le 25/06/2021.

# *Annexes*

## ANNEXE I

## 1. Les milieux liquides

Tableau 1 : composition de Milieu BCPL (Bouillon lactosé au pourpre de Bromocrésol)

Composition	g/l S/C	g/l D/C
<b>Peptone</b>	5,0	10,0
<b>Extrait de viande</b>	3,0	6,0
<b>Lactose</b>	5,0	10,0
<b>Bromocrésol pourpre</b>	0,025	0,50
<b>Eau distillée</b>	1L	1L

Tableau 2 : composition de Milieu ROTHE S/C

Composition	g/l
<b>Peptone</b>	20,0
<b>Glucose</b>	5,0
<b>Azide de sodium</b>	0,20
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0
<b>Phosphate bi potassique</b>	2,70
<b>Phosphate mono potassique</b>	2,70
<b>Eau distillée</b>	1L
<b>pH : 6.8 à 7</b>	

Tableau 3 : composition d'Eva- Litsky.

Composition	g/l
<b>Peptone</b>	20,0
<b>Glucose</b>	5,0
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0



<b>Phosphate bi potassique</b>	2,70
<b>Azothvate de sodium</b>	0,30
<b>Ethyle- vliote</b>	5,0
<b>Eau distillée</b>	1L
<b>pH : 7</b>	

**Tableau 4 :** composition d'eau peptonée exempte d'indole

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Peptone exempte d'indole</b>	10,0
<b>Chlorure de soduim</b>	5,0
<b>pH : 7.2</b>	

**Tableau 5 :** composition de Sélénite cystéine (SFB)

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Tryptone</b>	5,0
<b>Lactose</b>	4,0
<b>Sélénite acide de sodium</b>	4,0
<b>Phosphate disodique</b>	10,0
<b>L-cystine</b>	0,01
<b>pH : 7</b>	

## 2. Les milieux solides (gélosés)

**Tableau 6 :** composition de Gélose Cétrimide.

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Peptone de gélatine</b>	16,0
<b>Peptone de caséine</b>	10,0
<b>Bromure de tétradonium (Cétrimide)</b>	0,20

<b>Acide nalidixique</b>	0,0150
<b>Sulfate de potassium</b>	10,0
<b>Chlorure de magnésium</b>	1,40
<b>Agar</b>	10,0
<b>pH : 7,1</b>	

**Tableau 7** : composition de Gélose Salmonella-Shigella (SS).

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Peptone pancréatique de caséine</b>	10,0
<b>Lactose</b>	10,0
<b>Sels biliaires</b>	6,0
<b>Extrait de viande</b>	5,0
<b>Citrate de sodium</b>	8,5
<b>Citrate de fer ammoniacal</b>	1,0
<b>Thiosulfate de sodium</b>	8,5
<b>Rouge neuter</b>	0,0025
<b>Vert brillant</b>	0,00033
<b>Eau distillée sterile</b>	1L

**Tableau 8** : composition de gélose Chapman au Mannitol.

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Tryptone</b>	5,0
<b>Peptone de viande</b>	5,0
<b>Extrait de viande</b>	1,0
<b>Mannitol</b>	10,0

<b>Chlorure de sodium</b>	75,0
<b>Rouge de phénol</b>	0,025
<b>Agar bactériologique</b>	15,0
<b>Eau distillée</b>	1L
<b>pH : 7,4</b>	

**Tableau 9** : composition de Gélose GELM.

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Agar</b>	4,0
<b>Extrait de malt</b>	0,20
<b>Extrait de levure</b>	1,0
<b>Glucose</b>	1,0
<b>L'eau distillée stérile</b>	0,21

**Tableau 10** : composition de TGEA (gélose numération : gélostryptone- glucose- Extrait de levure).

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Tryptone</b>	5,0
<b>Glucose</b>	1,0
<b>Extrait de levure</b>	25,0
<b>Gélose</b>	15,0
<b>Eau distillée</b>	1L
<b>pH : 7</b>	

**Tableau 11** : composition de KingA.

Composition	g/l
<b>Peptone bactériologique A</b>	20,0
<b>Glécérol</b>	10,0
<b>K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	10,0
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	1,40
<b>Agar purifié</b>	12,0

**Tableau 12** : composition de KingB.

Composition	g/l
<b>Peptone bactériologique A</b>	20,0
<b>Glécérol</b>	10,0
<b>K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	10,0
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	1,40
<b>Agar purifié</b>	12,0

**Tableau 13** : composition de Gélose Hektoen.

Composition	g/l
<b>Peptone pepsique de viande</b>	12,0
<b>Extrait autolytique de levure</b>	3,0
<b>Lactose</b>	12,0
<b>Saccharose</b>	12,0
<b>Salicine</b>	2,0
<b>Sels biliaires</b>	9,0
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0
<b>Thiosulfate de sodium</b>	5,0

<b>Citrate ferrique ammoniacal</b>	1,5
<b>Bleu de Bromothymol</b>	0,065
<b>Fuchsine acide</b>	0,04
<b>Agar bactériologique</b>	13,5
<b>Eau distillée</b>	1L
<b>pH : 7,6</b>	

**Tableau 14** : composition de Gélose de Mac Conkey.

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Peptone bactériologique</b>	20,0
<b>Sels biliaires</b>	1,50
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0
<b>Lactose</b>	10,0
<b>Rouge neutre</b>	0,03
<b>Cristal violet</b>	0,001
<b>Agar</b>	15,0
<b>Eau distillée stérile</b>	1L
<b>pH : 7.1</b>	

**Tableau 15** : composition de Viande foie (VF).

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Base viande foie</b>	30,0
<b>Glucose</b>	2,0
<b>Amidon</b>	2,0
<b>Agar</b>	1,0
<b>Eau distillée</b>	1L

**Tableau 16** : composition de Gélose nutritive.

Composition	g/l
<b>Peptone</b>	5,0
<b>Extrait de viande</b>	1,0
<b>Extrait de levure</b>	2,0
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0
<b>Agar</b>	15,0
<b>Eau distillée</b>	1L
<b>pH : 7,4</b>	

**Tableau 17** : composition de Gélose Mueller-Hinton.

Composition	g/l
<b>Peptone de caséine acide</b>	17,50
<b>Extrait de viande</b>	2,0
<b>Amidon soluble</b>	1,50
<b>Agar bactériologique</b>	17,0
<b>Eau distillée</b>	1L
<b>pH : 7,3</b>	

**Tableau 18** : composition de Gélose Sabouraud au chloramphénicol.

Composition	g/l
<b>Peptone de viande</b>	10,0
<b>Glucose</b>	20,0
<b>Chloramphénicol</b>	0,50
<b>Agar bactériologique</b>	15,0

<b>Eau distillée</b>	1L
<b>pH : 5,7</b>	

**Tableau 19** : composition de Citrate de Simmons.

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

**Tableau 20** : composition de Gélose G.N.A.B.

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Peptone de viande</b>	10 ,0
<b>Extrait de viande</b>	3,0
<b>Chlorure de sodium</b>	5,0
<b>Bile de bœuf desséchée</b>	2,0
<b>Agar</b>	18,0
<b>pH : 8,6</b>	

## ANNEXE II

---

### 1. Verrerie :

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

### 2. Appareillage :

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

### 3. Autre matériel :

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



## ANNEXE III

Tableau 21 : Table NPP

Nombre caractéristique	Nombre de cellule	Nombre caractéristique	Nombre de cellule	Nombre caractéristique	Nombre de cellule
000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	0.7	221	3.0	321	15.0
102	1.1	222	3.5	322	20.0
110	0.7	223	4.0	323	30.0
111	1.1	230	3.0	330	25.0
120	1.1	231	3.5	331	45.0
121	1.5	232	4.0	332	110.0
130	1.6	300	2.5	333	140.0
200	0.9	301	4.0		

## ANNEXE IV

Tableau 22 : Les antibiotiques utilisés

Antibiotique	Famille	Charge ( $\mu\text{g}$ )	Abréviation	Diamètres Critiques (cm).	
				S	R
Cefaléxine	$\beta$ -lactamines	30	CL	$\geq 1,8$	$< 1,2$
Chloramphénicol	Phénicolés	30	C	$\geq 2,3$	$< 1,9$
Nitrofurantoïne	Nitrofuranes	300	F	$\geq 1,5$	$< 1,5$
Vancomycine	Glycopeptides	30	VA	$\geq 1,7$	$< 1,7$
Pénicilline G	$\beta$ -lactamines	10	P	$\geq 2,9$	$< 1,8$
Erythromycine	Macrolides	15	E	$\geq 2,2$	$< 1,7$
Gentamicine	Aminosides	10	GEN	$\geq 1,8$	$< 1,6$

## Résumé

La majorité des stations d'épuration qui fonctionnent à ce jour en Algérie produisent des boues activées. Les boues d'épuration, même traitées, renferment des microorganismes pathogènes ainsi que des éléments organiques. Durant cette étude les analyses bactériologiques des boues ont montré une contamination fécale avec une forte concentration en coliformes totaux et fécaux, en Streptocoques fécaux, en anaérobies sulfite-réducteurs et en Streptomyces. Pour les germes pathogènes, il y'a présence des Staphylocoques et des Pseudomonases et une absence totale des Salmonelles, Vibrio et Shigelles. Les levures (Candida Albicans) sont présentes avec une concentration moyenne. Ces boues avec cette charge, représentent donc un risque non négligeable sur la santé publique lors de leur utilisation pour une valorisation agricole ainsi que pour le personnel de la station de traitement des eaux usées.

**Mots Clés :** Eau usée, boue activée, bactéries, contamination, antibiotiques.

## Abstract

The majority of wastewater treatment plants which operate to date in Algeria produce activated sludge. Sewage sludge, even treated, contains pathogenic microorganisms as well as organic elements. During this study, bacteriological analyzes of the sludge showed faecal contamination with a high concentration of both total coliforms and faecal coliforms, faecal streptococcus, sulfite-reducing anaerobes and Streptomyces. For pathogens, there is the presence of Staphylococci and Pseudomonases and a total absence of Salmonella, Vibrio and Shigella. Yeasts (Candida Albicans) are present with an average concentration. This sludge, with this load, therefore represents a non-negligible risk to public health when it is used for agricultural recovery as well as for the staff of the wastewater treatment plant.

**Key Words:** Wastewater, activated sludge, bacteria, contamination, antibiotics.

## ملخص

ان اغلبية محطات الصرف الصحي العاملة الي يومنا هذا بالجزائر تنتج الحمأة النشطة. تحتوي حمأة مياه الصرف الصحي، حتى بعد معالجتها، على الكائنات الحية الدقيقة الممرضة وكذلك العناصر العضوية. خلال هذه الدراسة، أظهرت التحاليل البكتريولوجية للحمأة تلوئاً برازياً بتركيز عالٍ من القولونيات الاجمالية و البرازية، البكتريا العقدية البرازية، البكتريا المرجعة للكبريت اللاهوائية و البكتريا العقدية-الفطرية. بالنسبة للجراثيم الممرضة، هناك وجود للمكورات العنقودية، البسودوموناس مع غياب كامل للسالمونيلا، للفيبريو و الشيجيلا. الخمائر (المبيضات البيض) حاضرة بتركيز متوسط. هذه الحمأة و بهذه الحمولة، تمثل خطر لا يستهان به علي الصحة العمومية عند الاستعمال الفلاحي لهذه الحمأة و كذلك علي عمال محطة معالجة مياه الصرف الصحي.

**كلمات مفتاحية:** مياه الصرف الصحي، الحمأة النشطة، بكتيريا، تلوث، مضادات حيوية.