

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie Agro-écologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de master2

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Thème

Caractérisation de quelques bactéries dépolluantes des eaux usées (ONA) Blida

Présenté par :

Date de soutenance :

* OULD CHABANE KHAOULA

14 juillet 2022

* SOUADI NESRINE

Devant le jury composé de :

Nom	Grade / Lieu	Qualité
Mme. BENSAID.F	M.A.A USDB1	Présidente
Mme. MEKHALDI.D	Dr USDB1	Examinatrice
Mme. AMMAD.F	MCA USDB1	Promotrice
Mme. RAHO.K	chargé d'exploitation de STEP	CO-Promotrice

Année universitaire : 2021/2022

Remercîments

En préambule à ce projet, nous souhaitons adresser tous nos remerciements au bon Dieu "**ALLAH**" qui nous a donné la santé, la volonté et le courage sans les quels ce travail n'aurait pas été réalisé.

On souhaite, tout d'abord, remercier notre promotrice madame **AMMAD FAIZA**, maitre de conférence (MCA), à l'université de BLIDA 1, d'avoir accompli parfaitement leur rôle et pour ces orientations et sa patience, ainsi que ses suggestions à améliorer la qualité de ce mémoire.

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, Madame

BENSAID F maitre-assistant classe A, à université BLIDA 1, qui nous a fait l'honneur de présider le jury. Madame **MEKHALDI D**, enseignante à l'universités de BLIDA 1, qui a accepté d'examiner ce travail et l'intérêt qu'elle a porté pour nous faire profiter de leurs expériences.

Nous adressons également nos profonds remerciements à notre Co-promotrice madame **RAHO K** responsable de la station d'épuration des eaux usées de la commune de BENI MERED la wilaya de BLIDA, pour vouloir codiriger nos travaux.

Nous tenons à remercier **Mr TEFAHI** ingénieur de laboratoire d'hygiène BLIDA Pour nous aider à compléter nos recherches en fournissant tous les matériels nécessaires.

Nous tenons à remercier tous les enseignant de la spécialité biotechnologie microbienne, pour tous leur efforts et pour tous les meilleurs moments que nous avons passé avec vous.

Enfin, on tient à remercier de manière sincère et spéciale, toutes les personnes qui sont tout simplement intéressées à ce travail. Qu'elles trouvent en ces mots, l'expression de nos profondes gratitude même si leurs noms ne figurent pas dans cette brève série de reconnaissances.

Dédicace

En premier lieu, je remercie ALLAH, le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la santé pour terminer ce modeste travail.

Je dédie ce travail

A Mes chers parents

Ma mère " KARIMA " et mon père " NOURDINE " 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. Que Dieu vous protège et vous accorde

Une longue vie pleine de santé et de bonheur.

A L'inoubliable YEMMA رَحْمَةُ اللَّهِ

A Mes frères " AYOUB, NOUH et CHOUAIB " pour ces encouragements et ses prières pour moi tout le long de mes années d'étude.

A toute mes tantes " FATIMA, NADIA, ZAHIA, SALIHA, SOUAD " et mon oncles " RIDA " qui toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

A Mes chères cousines les plus près dans mon cœur " FAIZA, SARAH, AYA, YASMINE, FOUZIA, MERIAME " .

A Mes belles amies " SARAH, HADJER, KHADIDJA, FATIMA, et IHSSANE " .

A ma chère binôme " NESRINE " Merci pour tous ces agréables moments passés ensemble.

A tout la promotion de Master 2 Biotechnologie Microbienne

A tous ceux qui m'aiment et que j'aime

KHAOULA

Dédicace

A ma chère mère "Anissa"

Qui par ses sacrifices consentis et son affection profonde m'a toujours guidé sur la voie du succès,
Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance

A mon cher père "Saad"

Qui m'a toujours transmis l'amour du travail et le sens du perfectionnisme et Qui m'a toujours
encadré avec beaucoup d'amour et d'attention, Que Dieu le bénisse

A L'inoubliable "MANI ZOUHRA" رَحْمَهَا اللهُ

A ma chère sœur "lilya"

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mon petit ange "ANNIS"

A mes chères tantes "AMINA" et "FAIZA"

Pour leurs amours et leurs encouragements

A mes chères cousine les plus près dans mon cœur : "IKRAM", "NAILA", "RIHEM", "CHAIMAA"
,"RIHEB" et "MALEK"

A mes chères amis "OUIAM" et "DONIA"

Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A ma chère binôme "KHAOULA"

Pour sa entente et sa sympathie. Pour leurs indéfectibles soutiens et leurs patiences infinies.

A tout la promotion de master 2 Biotechnologie Microbienne

A tous ceux qui m'aiment et que j'aime

NESRINE

Résumé

Les eaux usées engendrent une pollution qui risque de diminuer les potentialités économiques et d'avoir des répercussions néfastes sur la santé humaine et sur l'environnement, elles doivent être épurées avant d'être rejetées dans le milieu naturel. C'est pour cela que les eaux usées devraient être dirigées vers des stations d'épuration afin de concentrer la pollution qu'elles contiennent sous forme de résidu, de rejeter l'eau épurée et cela grâce à des procédés physico – chimiques et biologiques. Cette étude est basée sur la caractérisation des quelques bactéries dépolluantes des eaux usées de la STEP (Station d'épuration) de Benimered (wilaya de Blida, Algérie). Nous avons étudié quelques paramètres physico – chimiques des eaux usées brute et traités, ainsi que quelques paramètres microbiologiques des boues activées (caractérisation macroscopiques, microscopiques, biochimiques et moléculaires) dans le but d'identifier quelques genres bactériens dépolluants.

Les résultats des analyses physico – chimiques montrent que les MES présentent une moyenne de 2 à 4 g / l, la demande biologique en oxygène (DBO5) avec une moyenne de 2,83 mg/l, la demande chimique en oxygène (DCO) avec une moyenne de 6,0 mg/l, et concernant ,le nitrates , l'azote ammoniacal (NH₄⁺), l'azote total et le phosphore total, diminuent d'une façon importante entre les eaux usées brute et les eaux usées traitées, ce qui indique un bon fonctionnement de la STEP. Les résultats des analyses bactériologique et moléculaire montre la présence de différentes espèces bactériennes recherchées(*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli* ,*Citrobacterfreundii* .*Bacillus thuringirnsis*).A travers ces résultats, nous pouvons déduire que les boues activées jouent un rôle important dans le traitement biologique des eaux usées parce qu'elle englobe une microflore importante qui favorise la dégradation de la matière organique.

Mots clés : Analyse physique-chimique, Boues activées, Eaux usée. Epuration. Microorganism et Pollution.

Abstract

Characterization of some bacteria wastewater treatment plants

(ONA) Blida

Wastewater generates pollution that risks reducing economic potential and having harmful repercussions on human health and the environment. It must be purified before being discharged into the natural environment. This is why waste water should be directed to treatment plants in order to concentrate the pollution they contain in the form of residue, to reject the purified water and this thanks to physico-chemical and biological processes. This study is based on the characterization of some depolluting bacteria of wastewater from the STEP (Wastewater treatment plant) of Benimed (wilaya of Blida, Algeria). We studied some physico-chemical parameters of raw and treated wastewater, as well as some microbiological parameters (macroscopic, microscopic, biochemical and molecular characterization) in order to identify some bacterial depolluting genera.

The results of the physico-chemical analyzes show that the SS have an average of 2 to 4 g / l, the biological oxygen demand (BOD5) with an average of 2.83 mg / l, and the chemical oxygen demand (COD) with an average of 6.0 mg/l, and concerning nitrates, ammoniacal nitrogen (NH₄ +), total nitrogen and total phosphorus, decrease significantly between the raw wastewater and the treated wastewater, which indicates a good functioning of the STEP. The results of the bacteriological and molecular analyze show the presence of different species of the bacterial genera sought (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli*, *Citrobacterfreundii*.and *Bacillusthuringirnsis*. Through these results, we can deduce that activated sludge play an important role in the biological treatment of wastewater because it includes an- important microflora that promotes the degradation of organic matter.

Keywords: Activated sludge, Microorganisms, Physiquo-chemical analysis, Pollution, Purification and Wastewater.

ملخص

توصيف بعض البكتيريا المزيلة للتلوث في مياه الصرف الصحي (ONA) البلدية

تتسبب مياه الصرف الصحي التلوث الذي يهدد بتقليل الإمكانيات الاقتصادية وله انعكاسات ضارة على صحة الإنسان والبيئة ، يجب تنقيتها قبل تصريفها في البيئة الطبيعية. و هذا هو السبب في ضرورة توجيه مياه الصرف الصحي إلى محطات المعالجة من أجل تركيز التلوث الذي يحتويه على شكل بقايا المياه النقية وذلك بفضل العمليات الفيزيو-كيميائية والبيولوجية ، وتستند هذه الدراسة إلى توصيف إزالة بعض البكتيريا من مياه الصرف الصحي من محطة معالجة مياه الصرف الصحي STEP (محطة معالجة مياه الصرف الصحي) في بني مراد (ولاية البلدية ، الجزائر). درسنا بعض المتغيرات الفيزيائية والكيميائية لمياه الصرف الصحي الخام والمعالجة ، وكذلك بعض المتغيرات الميكروبيولوجية (العيانية ، الميكروسكوبية ، البيوكيميائية والجزيئية) للتعرف على بعض الأجناس المسببة للتلوث البكتيري.

تظهر نتائج التحليلات الفيزيو-كيميائية أن لديها متوسط 2 إلى 4 جم / لتر ، والطلب البيولوجي للأكسجين (BOD5) بمتوسط 2.83 مجم / لتر ، والطلب الكيميائي للأكسجين (COD) بمتوسط 6.0 ملجم / لتر ، وفيما يتعلق بالنترات، نيتروجينا الأمونيا (NH_4 +) ، النيتروجين الكليوالفوسفور الكلي، تنخفض بشكل كبير بين مياه الصرف الخام ومياه الصرف الصحي المعالجة مما يدل على حسن سير العمل في محطة معالجة مياه الصرف الصحي. تظهر نتائج التحاليل البكتريولوجية والجزيئية وجود أنواع مختلفة من الأجناس البكتيرية المنشودة (*Pseudomonas putida* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Pseudomonas fluorescens* ، *Escherichia coli* ، *Bacillus thuringiensis* ، *Citrobacter freundii*) . يمكننا أن نستنتج من هذه النتائج ان الحمأة المنشطة تلعب دورًا مهمًا في المعالجة البيولوجية لمياه الصرف الصحي لأنها تحتوي على كائنات دقيقة مهمة تعزز تحلل المواد العضوية.

الكلمات المفتاحية: التحليل الفيزيو-كيميائي ، التلوث، الحمأة المنشطة ، الكائنات الدقيقة، طهارة ومياه الصرف الصحي.

Listes des tableaux

Tableau 1	L'effet des virus des eaux usées.....	24
Tableau 2	Les bactéries pathogènes des eaux usées.....	24
Tableau 3	Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (pH, T, CE).....	54
Tableau 4	Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (DCO, DBO5).....	55
Tableau 5	Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , NH ₄ +NT, PO ₄ , PT)...	58
Tableau 6	Les résultats d'analyses des boues activées.....	58
Tableau 7	les résultats de testsoxydas.....	66
Tableau 8	Résultats de galerie API.....	67

Listes des figures

Figure 1	Station d'épuration de Béni Mered.....	37
Figure 2	schéma générale de STEP de Beni Mared.....	39
Figure 3	schéma résumant la méthode utilisée pour la détermination de la demande chimique en oxygène (DCO).....	41
Figure 4	schéma résumant la méthode utilisée pour la détermination de la demande biochimique en oxygène (DBO).....	42
Figure 5	schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage de l'azote ammoniacal.....	43
Figure 6	schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage des nitrites (N-NO ₂).....	44
Figure 7	schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage des nitrates (N-NO ₃).....	44
Figure 8	schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage d'azote Total (NT).....	46
Figure 9	schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage de Phosphate Total (PT).....	59
Figure 10A	Aspect macroscopique de <i>Pseudomonas</i> sp sur milieu cérimide , isolé à partir de la boue activée.....	59
Figure 10B	Aspect macroscopique de <i>Pseudomonas</i> sp sur milieu cérimide , isolé à partir de la boue activée.....	60
Figure 10C	Aspect macroscopique de <i>Pseudomonas</i> sp sur milieu cérimide , isolé à partir de la boue activée.....	60
Figure 11	Aspect macroscopique de <i>Escherichia</i> sur milieu Mac conkey, isolé à partir de la boue activée.....	61
Figure 12	Aspect macroscopique de <i>citrobactaire</i> sur milieu Mac conkey, isolé à partir de la boue activée.....	61
Figure 13	Aspect macroscopique de <i>Bacillus</i> sur milieu amidon, isolé à partir de la boue activée.....	62
Figure 14A	Aspect microscopique de <i>Pseudomonas</i> sp. (G : X100).....	62
Figure 14B	Aspect microscopique de <i>Pseudomonas</i> sp. (G : X100)..	63
Figure 14C	Aspect microscopique de <i>Pseudomonas</i> sp. (G : X100).	63
Figure 15	Aspect microscopique de <i>Escherichia</i> (G : X100).....	63
Figure 16	Aspect microscopique de <i>citrobactaire</i> (G : X100).....	64
Figure 17	Aspect microscopique de <i>bacillus</i> (G : X100).....	64

Figure 18	Teste de lugol.....	65
Figure 19	Test oxydase(Témoin).....	65
Figure 20	Api 20E de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	68
Figure 21	Api 20E de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	68
Figure 22	Api 20E d' <i>Escherichia coli</i>	68
Figure 23	Api 20E de <i>Citobacterfreundii</i>	68
Figure 24	résultats de l'identification des isolats par MALDI –TOF	70

Liste des abréviations

BA : boue activé
CE : conductivité électrique.
CRAPC : Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimique
EB : d'eau usée brute
ET : eau usée traité
DBO5 : Demande Biochimique en Oxygène.
DCO : Demande Chimique en Oxygène.
ERI: Eau Résiduaire Industriel.
ERU: Eau Résiduaire Urbain.
EPS : substances polymères extracellulaires
HAP: Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.
ISO : Organisation Internationale de normalisation.
JORA: Journal Officiel de la République Algérienne.
MES : Matière En Suspension.
MMS: Matières Minérales en Suspension.
MO: Matière Organique.
MOS : Matières Organiques Solubles.
MVS: Matières Volatiles en Suspension.
NH₄⁺ Ammonium
NH₂- Nitrite
NH₃- Nitrate
O₃ : ozone
OMS: Organisation Mondiale de la Santé.
ONA : Office National de l'Assainissement.
PHA: Polyhydroxyalcanoate.
STEP: Station d'épuration.

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Tables des matières

Introduction17

Chapitre I : parti bibliographique

I.1.Origine des eaux usée19

I.1.1.Origine domestique..... 19

I.1.2 Origine industrielles20

I.1.3 Origine agricoles 20

I.1.4 Origine pluviale20

I.2 Caractéristiques des eaux usées.....20

I.2.1 Les paramètres physico-chimiques.....20

I.2.1.1 La température.....20

I.2.1.2 Le potentiel d'Hydrogène (pH).....20

I.2.1.3La demande biochimique en oxygène (DBO5).....21

I.2.1.4 La demande chimique en oxygène (DCO).....21

I.3.Composition des eaux usée.....21

I.3.1. Les substrats polluants des eaux usées.....21

I.3.2.La flore microbienne des eaux usée.....23

I.3.3 Les processus métaboliques de la flore microbienne des eaux usée26

I.4 Les procédés de traitements des eaux usées.....28

I.4.1 Prétraitement.....28

I.4.2Le traitement primaire29

I.4.3.Traitement secondaires (ou traitement biologique).....29

I.4.4.Traitement tertiaire.....	31
I.4.5.Traitement et élimination des boues.....	32
I.5.Techniques d'épuration des eaux usées.....	32
I.6.Structure de la boue activée.....	33
I6.1. Présentation succincte de la biomasse épuratrice des boues activées.....	34

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1.Présentation de la station d'épuration de (STEP) de Béni Mered (Blida, Algerie).....	37
II.2.Matériel et méthode.....	37
II.3.Les analyses physico-chimiques des eaux usées.....	39
II. 3.1.Mesure de la température.....	39
II.3.2.Mesure du potentiel d'hydrogène (pH).....	39
II.3.3.Mesure de la conductivité électrique.....	40
II.3.4.Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO).....	40
II.3.5.Détermination de la demande biochimique en oxygène(DBO).....	41
II.3.6.Dosage de l'azote ammoniacal par méthode Kit Hach LCK303/LCK 305.....	43
II.3.7.Dosage des nitrites (N-NO ₂) par méthode KIT Hach LCK 341.....	43
II.3.8.Dosage des nitrates (N-NO ₃) par méthode kit Hach LCK339.....	44
II.3.9.Dosage d'azote Total (NT) par méthode Kit Hach LCK338/LCK238.....	45
II.3.10.Dosage de Phosphate Total (PT) par méthode Kit Hach LCK 350/348.....	46
II.4.Caractérisation physique et microbiologique des boues activées.....	47
II.4.1.Analyse physique de boue activée.....	47
II.4.1.1.Détermination des matières en suspension (MES).....	47
II.4.2.Analyse microbiologique des boues activées.....	47
II.4.2.1.Isolement des bactéries dépolluant (Pseudomonasspp , Bacillus spp.....	47Esherichia Coli , cétrobacter)
II.4.2.3.Purification des souches	48
II.5.Caractérisation macroscopique et microscopique.....	48

II.5.1.Observation macroscopique.....	48
II.5.2.Observation microscopique.....	48
II.6.Caractères biochimiques.....	49
II.6.1.Teste de lugol.....	49
II.6.2.Test d'oxydase.....	49
II.6.3.La galerie Api 20 E.....	49
II.7.Caractères moléculaire protéique.....	49
II.7.1.Maldi TOF Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF/MS).....	50
II.8.Conservation des isolats.....	50
II.8.1.Conservation courte durée.....	50
II.8.2. Conservation longue durée.....	51

Chapitre III: Résultats et discussion

III.1.Paramètres physico-chimiques des eaux usées (brutes et traitées).....	53
III.2.Caractérisation physique et microbiologique des boues activées.....	58
III.2.1.Analyse physique des boues activées (MES).....	58
III.2.2.Analyses microbiologiques des boues activées	59
III.2.2.1.Identification des souches bactériennes	59
III.2.2.1.1.Caractères morphologiques	59
III.2.2.1.1.1.Observation macroscopique	59
III.2.2.1.1.2.Observation microscopique	62
III.2.2.1.1.2.1.Coloration de Gram.....	62
III.2.2.1.2.Caractéristiques biochimiques	64
III.2.2.1.2.1.Test de lugol	64
III.2.2.1.2.2.Teste oxydase	65
III.2.2.1.2.3.Galerie API	67
III.2.2.1.2.Caractéristiques moléculaire	69
III.2.2.1.2.1.L'identification par le MALDI TOF	69

Conclusion.....72

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Des volumes de plus en plus importantes d'eaux usées sont rejetées dans les écosystèmes aquatiques dans le monde entier, de provenances diverses (foyers, capitaux, usines...). Ces eaux véhiculent des polluants en solution ou en suspension de nature chimique (molécules organiques, métaux lourds, sels nutritifs et autres...) ou microbiologique (bactéries, parasites et autres). Lorsqu'elles ne subissent aucun traitement au préalable, ces eaux sont susceptibles de perturber l'équilibre des milieux récepteurs et de causer des problèmes d'ordre hygiénique comme la contamination des eaux de surface et souterraines. Une certaine dépollution est assurée par les sols, les rivières et autres systèmes hydriques (**Koren et Bisesi, 1996**). Mais la capacité de cette autoépuration est largement dépassée. Si bien que pour protéger la qualité des eaux naturelles comme toute dégradation excessive, de nombreuses eaux résiduaires sont traitées dans des stations d'épuration urbaines ou rurales. Ce traitement conduit à la réduction des matières oxydables, des matières en suspension et des bactéries (**Bassompierre, 2007**).

Les procédés biologiques d'épuration sont multiples et de conceptions variées, ils sont basés essentiellement sur la faculté des microorganismes à assimiler les substances polluantes. Le principe d'épuration est le même que celui des milieux épurateurs naturels. On distingue les procédés intensifs à cultures libres (ex: boues activées), les procédés à cultures fixées (ex: lits bactériens, disques biologiques) et les procédés extensifs (lagunage). Le principal procédé utilisé pour l'épuration des effluents pollués est celui dit : « boues activées » (**Edeline, 1998**). Il reproduit l'action d'une rivière avec une dynamique intense des populations microbiennes aérobies maintenues en suspension. L'effluent brut subit tout d'abord un prétraitement et une décantation primaire. L'effluent prétraité séjourne ensuite quelques heures (jusqu'à 24 heures pour un effluent urbain) dans un bassin d'aération on se produit le traitement secondaire (biologique). Dans ce compartiment, un brassage et une oxygénation, continus ou intermittents, sont indispensables pour l'activité des microorganismes épuratoires. En dernier lieu, le contenu de l'aérateur passe dans un autre bassin pour une décantation secondaire qui a pour but de séparer l'eau épurée et les boues produites. Dans certains cas, une étape supplémentaire est nécessaire, comme la désinfection, pour un rejet de haute qualité (**Ladjel et abbou, 2016**).

Plusieurs groupes d'organismes procaryotes et eucaryotes trouvent dans les eaux usées des stations d'épuration les conditions favorables pour se développer et proliférer. Ce sont les épurateurs des effluents pollués. Leur participation à la clarification du milieu est soit directe, soit indirecte. Dans tous les systèmes épuratoires, les bactéries représentent la plus grande proportion de biomasse microbienne et jouent le rôle capital de l'épuration. Dans un réacteur

Introduction

à boues activées la densité de cette biomasse microbienne atteint 109 cellules ml (**Bassompierre, 2007**).

Elles s'associent avec les molécules dissoutes ou colloïdales et avec les particules du milieu pour former des éléments insolubles ou floc, eux-mêmes composants des boues. Les genres dominants sont des Gram négatifs (*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*). Le second grand groupe de microorganismes des stations d'épuration est celui des Protistes. Ce sont essentiellement des Protozoaires ciliés, Ils assurent la clarification de l'effluent par prédation des bactéries. Cette fonction a été montrée dans le cas des boues activées. Les Protozoaires ciliés sont des indicateurs de la qualité de l'effluent et du bon fonctionnement d'une installation (**Fertas et al 2015**).

Dns ce contexte l'objectif dans cette étude vise à :

- 1- Analyser les paramètres physicochimiques des eaux use (brute et traité) de la dans la station d'épuration de BeniMered wilaya de Blida.
- 2- Isoler quelques bactéries dépolluantes à partir de boues activée dans la station d'épuration de BeniMered wilaya de Blida.
- 3- Identifier à travers une caractérisation macroscopique, microscopique, biochimique et moléculaire de ces bactéries.
- 4- Conserver les bactéries identifiées.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

Les eaux usées sont des milieux extrêmement complexes qui sont altéré par l'activité humaine après des usages domestiques, industriels, artisanaux, agricoles ou autres. Ils sont considérés comme contaminant et doivent donc être éliminés avant d'être réutilisés ou injectés dans le milieu naturel récepteur. C'est pourquoi toutes les eaux usées municipales ou industrielles sont traitées pour réduire ou éliminer ces polluants afin de respecter ces différents milieux récepteurs naturels. Ces traitements peuvent être réalisés collectivement dans des stations d'épuration ou individuellement par des procédés intensifs ou extensifs (**Selghi, 2001**).

La dépollution des eaux usées urbaines nécessite une succession d'étapes faisant appel à des traitements physiques, physico - chimiques et biologiques. En dehors des plus gros déchets présents dans les eaux usées, l'épuration doit permettre, au minimum, d'éliminer la majeure partie de la pollution carbonée. Le traitement des eaux usées est une alternative susceptible de résoudre les différents problèmes de pollution des milieux aquatiques récepteurs. Il s'agit essentiellement de réaliser l'élimination de composés organiques biodégradables Certains procédés permettent la Co élimination l'azote et même du phosphore, une grande majorité de ces polluants est transférée de la phase liquide vers une phase concentrée boueuse (**Selghi, 2010**).

I.1. Origine des eaux usée

D'après **Rodier et al. (2009)**, On peut classer comme eaux usées, les eaux d'origine urbaines constituées par des eaux ménagères (lavage corporel et du linge, lavage des locaux, eaux de cuisine) et les eaux de vannes chargées de fèces et d'urines, toute cette masse d'effluents est plus ou moins diluée par les eaux de lavage de la voirie et les eaux pluviales et peuvent s'y ajouter suivant les cas les eaux d'origine industrielle et agricole.

I.1.1. Origine domestique

Les eaux usées d'origine domestique sont issues de l'utilisation de l'eau (potable dans la majorité des cas) par les particuliers pour satisfaire tous les usages ménagers. On distingue généralement deux « types » d'eaux usées domestiques qui arrivent toutes dans le réseau d'assainissement les eaux vannes, qui correspondent aux

Synthèse bibliographique

eaux de toilettes et les eaux grises qui correspondent à tous les autres usages : lavage, lave-vaisselle, douche/bain (Baumontet al., 2004).

I.1.2. Origine industrielles

Elles sont très différentes des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus des matières organiques azotées ou phosphorées, elles peuvent également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques ou des hydrocarbures (El rhazi et al., 2007).

I.1.3. Origine agricoles

Les eaux d'origine agricoles sont constituées essentiellement des eaux de drainage des champs agricoles et des rejets de lavage des fermes d'élevage. Il s'agit d'un mélange de composés relativement biodégradable. Néanmoins, ces eaux sont parfois caractérisées par de fortes concentrations de pesticides et d'engrais artificiels (Rejsek, 2002).

I.1.4. Origine pluviale

Ce sont des eaux de ruissellement qui se forment après une précipitation. Elles peuvent être particulièrement polluées surtout en début de pluie par deux mécanismes : Le lessivage des sols et des surfaces imperméabilisées. Les déchets solides ou liquides déposés par temps sur ces surfaces sont entraînés dans le réseau d'assainissement par les premières précipitations qui se produisent (Rejsek, 2002).

I.2. Caractéristiques des eaux usées

I.2.1. Les paramètres physico-chimiques

I.2.1.1. La température

La température est un facteur écologique important des milieux aqueux. Son élévation peut perturber fortement la vie aquatique (pollution thermique). Elle joue un rôle important 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 (Rodier et al, 2005).

I.2.1.2. Le potentiel d'Hydrogène (pH)

Les organismes sont très sensibles aux variations du pH, et un développement correct de la faune et de la flore aquatique n'est possible que si sa valeur est comprise

Synthèse bibliographique

entre 6 et 9. L'influence du pH se fait également 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. La nitrification optimale ne se fait qu'à des valeurs de pH comprises entre 7,5 et 9 (Rodier, 2005).

I.2.1.3. La demande biochimique en oxygène (DBO5)

C'est le test le plus populaire utilisé pour la détection de la pollution organique des eaux usées et des eaux potables. La DBO permet de mesurer l'oxygène dissous utilisé par les micro-organismes lors de la dégradation de la matière organique (Metcalf et Eddy, 2003). La DBO détermine la force des eaux usées, des effluents et d'autres eaux polluées et fournit des données sur la charge de pollution dans toutes les eaux naturelles. Il est le plus souvent exprimé en milligrammes d'oxygène consommé par litre d'échantillon pendant 5 jours d'incubation à 20°C et est souvent utilisé comme un substitut robuste du degré de pollution organique de l'eau. La DBO peut être utilisée comme indicateur de l'efficacité des stations d'épuration (Khaldi, 2017).

I.2.1.4. La demande chimique en oxygène (DCO)

La Demande Chimique en Oxygène (DCO) est la mesure de la quantité d'oxygène nécessaire pour la dégradation chimique de toute la matière organique biodégradable ou non contenue dans les eaux à l'aide du bichromate de potassium à 150°C. Elle est exprimée en mg/l. La valeur du rapport DCO/DBO indique le coefficient de biodégradabilité d'un effluent, il permet aussi de définir son origine (Suschka et Ferreira, 1986).

I.3. Compositions des eaux usées

I.3.1. Les substrats polluants des eaux usées

A la différence de divers phénomènes de pollution, celle des eaux se traduit par les effets particuliers liés aux spécificités écologiques propres aux milieux aquatiques (Pronots et al 2002). En effet, l'eau peut dissoudre, souvent avec facilité, de nombreuses substances chimiques et biologiques. Par conséquent, tout polluant peut être véhiculé fort loin de la source de contamination. On distingue quatre catégories principales liées aux différentes caractéristiques de ces substances qui déterminent le type de procédé efficace pour leur purification :

Synthèse bibliographique

I .3.1.1. Matières décan tables ou flottantes

Elles représentent la fraction des composés grossiers (galets, graisses...). Ces substances sont soumises à des prétraitements ou éventuellement à un traitement primaire. En fonction de leur nature, on peut recourir aux procédés de flottation ou de décantation.

I .3.1.2. Matières fines en suspension

Elles sont formées de particules visibles à l'œil nu (de 0.1 à 1 mm) qui contribuent à la turbidité de l'eau. Leur traitement s'effectue par des techniques de sédimentation ou de centrifugation.

I .3.1.3. Matières colloïdales

Dissoute dans l'eau, elles sont constituées de particules d'un diamètre de 0.01 à 100 µm. A la limite entre les phases solide et soluble, ces éléments sont éliminés par dégradation biologique ou par décantation associée à un mécanisme de coagulation.

I .3.1.4. Matières solubles

Leur taille est inférieure à 0.01 µm. Ces substances sont directement consommées par les populations biologiques au cours de traitement secondaire. La partie biodégradable peut se retrouver dans l'effluent de sortie; si leur quantité est importante un traitement tertiaire s'impose.

Une autre classification très importante est fondée sur le pouvoir de dégradation des déchets polluants. On distingue ainsi deux classes principales

I .3.1.5. Matières biodégradables

Affectées par les activités biologiques des micro-organismes, ces substances sont soumises aux divers processus biochimiques de conversion. Cette fraction biodégradable peut être structurée en deux groupes :

I .3.1.5.1. Matières aisément dégradables

Composées des substances solubles. Ces matières ont la caractéristique de pouvoir être directement absorbées par les bactéries.

Synthèse bibliographique

I .3.1.5.2.Matières lentement dégradables

Composées des substrats particuliers formés par un mélange de substances organiques solides, colloïdales et solubles. Ces matières sont soumises à certains processus intermédiaires avant d'être absorbées par les populations bactériennes.

I .3.1.6. Matières non-biodégradables

Ces substances inertes ne subissent aucun phénomène biologique de transformation. Ces matières sont soit présentes dans les eaux résiduaires, comme les métaux lourds, soit issues des phénomènes de mortalité des micro-organismes au cours des processus biologiques d'épuration. Les composants non-biodégradables solubles peuvent traverser la station d'épuration sans être modifiés mais les matières inertes en suspension peuvent être éliminées par les mécanismes de décantation.

La structure chimique des polluants permet de distinguer deux types de composés :

I .3.1.6.1.Matières organiques

Elles sont constituées d'un grand nombre de composés qui ont la particularité commune de posséder au moins un atome de carbone, d'où leur nom de substances carbonées. Ces atomes de carbone sont oxydés biologiquement par les micro-organismes pour fournir l'énergie nécessaire à leur croissance.

I .3.1.6.2.Matières inorganiques

Sont des substances ne contenant pas de carbone. La fraction minérale des eaux résiduaires représente principalement les produits azotés et phosphorés.

I.3.2. La flore microbienne des eaux usées

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale est accompagnée d'organismes pathogènes. Ces microorganismes sont : les virus les bactéries, les champignons, les protozoaires et les helminthes (**Belaid, 2010**).

I.3.2.1.Les virus

Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires qui ne peuvent se multiplier que dans une cellule hôte. On estime leur concentration dans les eaux usées urbaines comprise entre 10^3 et 10^4 particules par litre. Leur isolement et leur dénombrement dans les eaux usées restent difficiles, ce qui conduit vraisemblablement à une sous-estimation de leur nombre réel. Les virus entériques

Synthèse bibliographique

sont ceux qui se multiplient dans le trajet intestinal. Parmi les virus entériques humains les plus nombreux il faut citer les entérovirus, les rotavirus, les retrovirus, les adénovirus et le virus de l'Hépatite A (Tableau.1) (Belaid, 2010).

Tableau 1 : L'effet des virus des eaux usées (Baumont et al., 2009).

Agent pathogène	Symptômes, maladie	Nombre pour un litre d'eau usée	Voies de contamination Principale
<i>Virus de l'Hépatite A</i>	Hépatite A		Ingestion
<i>Rota virus</i>	Vomissement, diarrhée	400 à 85000	Ingestion
<i>Poliovirus</i>	Paralyse, méningite, fièvre	182 à 492000	Ingestion
<i>Coxsackie A</i>	Méningite, fièvre, pharyngite, maladie respiratoire		Ingestion

I.3.2.2. Les bactéries

Les bactéries sont les microorganismes les plus communément rencontrés dans les eaux usées. Les eaux usées urbaines contiennent environ 10⁶ à 10⁷ bactéries/100 ml dont la plupart sont Proteus et Entérobactéries, 10³ à 10⁴ Streptocoques et 10² à 10³ Clostridium. La concentration en bactéries pathogènes est de l'ordre de 10⁴ UFC/l (Tableau I.2) (Belaid, 2010).

Synthèse bibliographique

Tableau 2 : Les bactéries pathogènes des eaux usées (**Baumont et al., 2009**).

Agent pathogène	Symptômes, maladie	Nombre pour un litre d'eau usée	Voies de contamination Principale
<i>Salmonella</i>	Typhoïde, paratyphoïde, salmonellose	23 à 80000	Ingestion
<i>Shigella</i>	Dysenterie bacillaire	10 à 10000	Ingestion
<i>Escherichia coli</i>	Gastroentérite		Ingestion
<i>Yersinia</i>	Gastroentérite		Ingestion
<i>Campylobacter</i>	Gastroentérite	37000	Ingestion
<i>Vibrio choléra</i>	Choléra	100 à 100000	Ingestion
<i>Leptospira</i>	Leptospirose		Cutanée/inhalation / ingestion
<i>Legionella</i>	Légionellose		Inhalation
<i>Mycobacterium</i>	Tuberculose		Inhalation

I.3.2.3. Les champignons

Les champignons constituent un groupe d'organismes extrêmement vaste (de l'ordre de 1.5 millions d'espèces dont 69000 identifiées) et très diversifié. On les rencontre dans de multiples habitats terrestres ou aquatiques. La majorité de ces microorganismes sont saprophytes, d'autres au contraire sont parasites de l'homme, des animaux et des plantes. Dotés de propriétés lytiques

Importantes, qui en font des agents de dégradation dangereux mais parfois des alliés utiles (production d'enzymes), les champignons jouent un rôle important dans l'équilibre biologique (**Belaid, 2010**).

I.3.2.4. Organismes libres

- **Les protozoaires**

Au cours de leur cycle vital, les protozoaires passent par une forme de résistance, les kystes, qui peuvent être véhiculés par les eaux résiduaires. Ces parasites sont très persistants. Ainsi, selon les conditions du milieu, ces organismes peuvent survivre plusieurs semaines voire même plusieurs années (**Campos, 2008**). Plusieurs protozoaires pathogènes ont été identifiés dans les eaux usées). Parmi les

Synthèse bibliographique

plus importants du point de vue sanitaire, il faut citer *Entamoebahistolytica*, responsable de la dysenterie amibienne, *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium parvum*. En revanche, 10 à 30 kystes, est une dose suffisante pour causer des troubles sanitaires (**Gennaccaro et al. 2003., Campos, 2008**).

- **Les helminthes**

Les helminthes sont des parasites intestinaux, fréquemment rencontrés dans les eaux résiduaires. Dans les eaux usées urbaines (**Toze, 2006**). Les helminthes pathogènes rencontrés dans les eaux usées sont : *Ascaris lumbricades*, *Oxyuris vermicularis*, *Trichuris trichuria*, *Taenia saginata*. L'analyse des risques sanitaires liés aux agents pathogènes susceptibles d'être transportés par les eaux usées est le fondement des recommandations proposées par l'Organisation Mondiale de la Santé en 1989.

I.3.3. Les processus métaboliques de la flore microbienne des eaux usées

Les composants chimiques consommés par les micro-organismes sont soumis à de nombreuses réactions biochimiques qui font partie d'un des deux mécanismes métaboliques fondamentaux pour le développement des bactéries (**Berland et al 2001**).

I.3.3.1. Catabolisme

Représente l'ensemble des réactions d'oxydation et de dégradation enzymatique. C'est une activité exothermique qui libère l'énergie inhérente à la structure complexe des molécules organiques et minérales, et qui est stockée par les micro-organismes.

I.3.3.2. Anabolisme

Représente l'ensemble des réactions de réduction et de synthèse enzymatique. C'est une activité endothermique. qui utilise l'énergie libérée par les processus de catabolisme pour développer la taille et la structure chimique des composants organiques. Parmi le grand nombre de processus biochimiques mis en jeu au cours du traitement biologique des polluants par les différentes populations bactériennes, on peut distinguer principalement les activités suivantes (**Berland et al 2001**).

Synthèse bibliographique

• **Oxydation** : C'est une réaction qui implique une perte d'électrons suivie d'une production d'énergie. Une perte des matières absorbées par les micro-organismes est utilisée pour fournir l'énergie nécessaire afin d'accomplir leurs fonctions biologiques. Selon la nature de l'accepteur final d'électrons, le processus d'oxydation peut s'effectuer sous les conditions d'aérobiose (présence d'oxygène), d'anaérobiose (absence d'oxygène) ou d'anoxie (présence de nitrate).

• **Digestion** : La caractéristique de la digestion appelée aussi fermentation est que ce processus ne nécessite pas un accepteur d'électrons externe. C'est un mécanisme anaérobie de production d'énergie qui n'implique pas de chaîne de transport d'électrons. La fermentation est provoquée par des bactéries anaérobies capables de décomposer la matière organique en acides et alcools et de donner du méthane (CH₄) et du gaz carbonique (CO₂).

• **Nitrification** : C'est une transformation chimique de l'azote organique en nitrate (NO₃⁻) par des organismes dits nitrifiants. La nitrification a lieu en trois étapes dans les conditions d'aérobiose :

- l'ammonification où l'azote organique est converti en ammoniac (NH₄⁺) par l'intermédiaire des hétérotrophes.
- la nitrification qui est effectuée par les nitrifiants dont la majorité appartient à l'espèce Nitrosomonas. Ces autotrophes sont responsables de l'oxydation de l'ion ammoniac (NH₄⁺) en nitrite (NO₂⁻).
- la nitrification qui est accomplie par les nitrifiants de l'espèce Nitrobacter. Ces cellules autotrophes effectuent l'oxydation du nitrite en nitrate.

• **Dénitrification** : C'est un processus de conversion du nitrate effectué par les hétérotrophes facultatifs sous les conditions d'anoxie. La dénitrification peut avoir lieu selon deux activités biologiques différentes : l'assimilation où le nitrate est réduit en ammoniac qui peut servir comme source d'azote pour la synthèse cellulaire. L'azote est donc éliminé par incorporation à la matière cytoplasmique. Mais cette activité est relativement négligeable. La dissimilation joue un rôle très important dans l'élimination totale du nitrate. Certains micro-organismes facultatifs (à la fois aérobies et anaérobies) ont la capacité de se servir de l'oxygène fixé dans la molécule NO₃ lorsqu'ils se trouvent plantés dans des conditions d'anoxie, c'est-à-dire d'absence d'oxygène dissous.

Synthèse bibliographique

- **Floculation:** Dans les cultures en suspension où les micro-organismes flottent librement dans les eaux à traiter, ceux-ci ont tendance à s'agglutiner sous forme de petits amas appelés bioflocs. Certaines substances biodégradables (particules, colloïdes, grosses molécules) ne sont pas directement absorbées par les bactéries. Floculation permet aux micro-organismes d'améliorer leurs caractéristiques d'absorption des aliments sur leur membrane cellulaire.

- **Absorption:** Certains composés organiques comme les substances biodégradables particulières ne peuvent pas être directement absorbés par les bactéries. Ces matières sont d'abord absorbées par les micro-organismes et stockées à leur surface avant de subir un processus de conversion qui génère des substances simples aisément dégradables.

- **Hydrolyse :** C'est une série de réactions enzymatiques extracellulaires appliquées aux substances adsorbées et qui ont lieu à la surface des micro-organismes. Les molécules organiques complexes sont converties en molécules plus simples qui peuvent diffuser à travers la membrane cellulaire.

I.4. Les procédés de traitements des eaux usées

I.4.1. Prétraitement

D'après L'Office National de l'Assainissement(2011), les dispositifs de prétraitement sont présents dans toutes les stations d'épuration, quels que soient les procédés mis en œuvre en aval. Le prétraitement comporte une succession d'opérations physiques ou mécaniques destinées à séparer les eaux usées des matières volumineuses, en suspension ou flottantes, qu'elles véhiculent. Ces opérations consistent aux :

I.4.1.1. Dégrillage

Il consiste à faire passer les eaux usées à travers d'une grille dont les barreaux, plus au moins espacés, retiennent les éléments les plus grossiers: L'effluent passe pour cela entre les barreaux métalliques dont le nettoyage se fait soit automatiquement, soit manuellement, l'espacement de barreaux varie de 6 à 100 mm

Synthèse bibliographique

et sont placés verticalement ou inclinés de 60 à 80° sur l'horizontale. Le nettoyage de la grille est généralement mécanique, il est réalisé par un râteau solidaire d'un chariot qui se déplace de bas en haut le long d'une crémaillère ou entraîné par deux câbles. Après nettoyage des grilles, les déchets sont évacués avec les ordures ménagères (ONA, 2011).

I.4.1.2. Dessablage

Réalisé par décantation, le dessablage vise à éliminer les sables et les graviers. L'écoulement de l'eau à une vitesse réduite dans un bassin appelé « dessableur » entraîne leur dépôt au fond de l'ouvrage. Ces particules sont ensuite aspirées par une pompe. Les sables récupérés sont essorés, puis lavés avant d'être envoyés en décharge, soit réutilisés, selon la qualité du lavage (ONA, 2011).

I.4.1.3. Dégraissage-Déshuilage

Les opérations dégraissage-déshuilage consistent à séparer de l'effluent brut, les huiles et les graisses par flottation. Ces derniers étant des produits de densité légèrement inférieure à l'eau. L'injection des microbulles d'air permet d'accélérer la flottation des graisses. Souvent ces opérations sont combinées dans un même ouvrage où la réduction de vitesse dépose les sables et laisse flotter les graisses. On enlève ainsi de l'eau les éléments grossiers et les sables de dimension supérieure à 200 microns ainsi que 80 à 90 % des graisses et matières flottantes (ONA, 2011).

I.4.2. Le traitement primaire

Le traitement s'effectue par voie physico-chimique avec pour but d'extraire le maximum de matières en suspension et de matières organiques facilement décantables. Trois voies de traitement sont possibles :

- La décantation (processus physique) : le principe de séparation solide-liquide est la pesanteur, les matières en suspension ou colloïdales tendent à se séparer du liquide par sédimentation
- 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

Synthèse bibliographique

- La décantation associée à l'utilisation d'un coagulant- flocculant (voie physico-chimique) : le principe est ici de favoriser l'agrégation des molécules en suspension grâce aux techniques de coagulation et de floculation de façon à augmenter la sédimentation grâce à l'obtention de floccs plus gros.

Durant la phase de traitement primaire, une quantité importante de la pollution totale est éliminée (abattement des Matières En Suspension pouvant atteindre 90 % et de la demande biochimique en oxygène de l'ordre de 35 % (**Cardot, 1999**)).

I.4.3. Traitement secondaires (ou traitement biologique)

Le traitement biologique des eaux usées est le procédé qui permet la dégradation des polluants grâce à l'action de micro-organismes (**Rejsek, 2002**).

Ils vont permettre ainsi d'éliminer la pollution soluble biodégradable et une partie de MES (**Grosclaude, 1999**).

Le principe général de ce procédé consiste à accélérer le processus d'oxydation naturelle de la matière organique qui survient dans les milieux récepteurs. Il est principalement mis en œuvre par la technique des boues activées. Cette technique consiste à mettre en contact les eaux usées avec un mélange riche en bactéries par brassage pour dégrader la matière organique en suspension ou dissoute. Il y a une aération importante pour permettre l'activité des bactéries et la dégradation de ces matières, suivies d'une décantation à partir de laquelle on renvoie les boues riches en bactéries vers le bassin d'aération (**ONA, 2011**).

I.4.3.1. Stratégie de mise en œuvre des micro-organismes

Les micro-organismes dans les traitements des eaux usées les plus actifs, sont les bactéries qui conditionnent en fonction de leur modalité propre de développement, deux stratégies pour la mise en œuvre : la stratégie aérobie et la stratégie anaérobie (**Khaldi, 2017**).

I.4.3.2. Stratégie de mise en œuvre des micro-organismes en aérobie

Dans cette stratégie on cherche à transformer la pollution en biomasse microbienne, c'est-à-dire en matière insoluble facile à récupérer par décantation. L'oxygène qui est apporté dans l'eau à traiter, va être consommé avec les matières polluantes pour la croissance microbienne. Cette réaction d'oxydation biologique

Synthèse bibliographique

conduit à la production de chaleur et de quantité de boue (dites « boues biologiques ») (**Khaldi, 2017**).

I.4.3.3.Stratégie de mise en œuvre des micro-organismes en anaérobiose

Les traitements anaérobies font appel à des bactéries n'utilisant pas de l'oxygène, en particulier, aux bactéries méthanogènes qui conduisent à la formation du méthane à partir de la matière organique et à un degré moindre de CO₂ (**Khaldi, 2017**).

I.4.4. Traitement tertiaire

En général, les techniques d'épuration, même les plus sévères, laissent passer dans l'eau épurée des matières organiques difficilement biodégradables et échappent à la meilleure décantation. Ainsi même après un traitement secondaire l'eau véhicule presque toujours des micro-organismes et des micropolluants. La principale méthode utilisée est la désinfection par le chlore, qui doit être appliquée avec des doses très fortes et des temps de contact longs. Mais il convient de signaler suite à cette opération, des toxiques pour la vie aquatique peuvent être formés, il faut donc procéder à une opération de déchloration avant le rejet. A côté de la désinfection par le chlore, d'autres procédés existent également mais qui restent pratiquement inutilisables dans les domaines de l'épuration des eaux usées. Ceci s'explique par leurs coûts qui restent excessivement élevés, mais qui peuvent conduire une eau de qualité. On peut citer par exemple l'échange ionique et l'adsorption sur du charbon actif (**Prescott et al. 2003**).

I.4.4.1 La dé phosphatation

L'élimination du phosphore concerne le traitement de dé phosphatation, soit physicochimique soit biologique. La dé phosphatation biologique, de développement récent, est basée sur la succession de phases anaérobies et aérobies au cours du traitement biologique mais son rendement est en générale moins bon que celui de la dé phosphatation physico-chimique (**Rejsek, 2002**). La dé phosphatation peut aussi être réalisée par précipitation physico-chimique en présence de sels minéraux comme le sulfate d'ammonium ou le chlorure ferrique et en traitement s'effectuer soit

Synthèse bibliographique

simultanément aux réactions biologiques dans le bassin de boues activées, soit final (Urios, 2005).

I.4.4.2.La désinfection

I.4.4.2.1. Les traitements chimiques de désinfection Le chlore

Le chlore : est un oxydant puissant qui réagit à la fois avec des molécules réduites et organiques, et avec les microorganismes (Baumont et al. 2004).

L'ozone(O₃) : est un oxydant puissant, la désinfection par l'O₃ est utilisée aux Etats Unis, en Afrique du Sud et au Moyen Orient essentiellement, Il permet l'élimination des bactéries des virus et des protozoaires. C'est le seul procédé vraiment efficace contre les virus (Lazarova, 2003).

I.4.4.2.2.Les traitements physiques de désinfection

Les rayons ultraviolets : qui consistent à utiliser des lampes à mercure disposée parallèlement ou perpendiculairement au flux d'eau. Leur rayonnement s'attaque directement aux microorganismes (Baumont et al. 2004).

I.4.5. Traitement et élimination des boues

Les boues sont en partie recyclées pour ensemercer les bassins de traitement biologique. L'excédent des boues est extrait et peut subir, selon sa destination finale, un ou plusieurs traitements : épaissement, déshydratation, séchage (Isabelle et al., 2013).

I.4.5.1.Epaississement des boues

L'épaississement permet de réduire le volume des boues de façon conséquente, par l'utilisation de procédés simples et rapides. Le plus souvent, un conditionnement préalable avec un polymère est indispensable. Cet épaissement peut se faire par décantation statique, séparation dynamique (grille et table d'égouttage...) ou flottation (boues remontées par de fines bulles d'air et récupérées par raclage) (Isabelle et al. 2013).

Synthèse bibliographique

I.4.5.2.Déshydratation des boues

Les boues sont déshydratées pour réduire leur volume et les préparer à un éventuel séchage. La déshydratation peut se faire par centrifugation, filtre à bande, filtre-pressé, ou presse à vis. Lorsque ces boues sont destinées à l'amendement des sols, elles peuvent être mélangées à de la chaux (**Isabelle et al. 2013**).

I.4.5.3.Séchage des boues

Le séchage des boues peut se faire en serre ou par traitement thermique. Toute intervention sur ces procédés génère des poussières contenant des micro-organismes et des endotoxines à des niveaux particulièrement élevés (**Isabelle et al. 2013**).

I.5. Technique d'épuration des eaux usées

Il existe plusieurs filières avec différents types de traitement, mais le choix des procédés de traitement doit être adéquat de point de vue climatique, des applications attendues et d'un coût d'investissement. On distingue les procédés intensifs dont les boues activées, les disques biologiques, les lits bactériens et les procédés extensifs dont le lagunage et l'infiltration-percolation (**Eddabra, 2011**).

.Les techniques intensives (boue activée)

Le procédé à boues activées est basé sur l'intensification des processus d'autoépuration présent dans le milieu naturel. En effet, il permet la dégradation et la minéralisation de la matière organique par les bactéries aérobies dans un espace réduit, grâce à un apport en oxygène assuré par un brassage de la liqueur mixte. Ce procédé est composé de deux bassins principaux. Le premier est un bassin d'aération, dans lequel les agrégats bactériens sont maintenus en suspension dans l'eau grâce à un brassage continu de la liqueur (**Metcalf et Eddy, 2003**). Les microorganismes s'y développent et consomment la pollution organique des effluents en la transformant en dioxyde de carbone et eau. Le second bassin, appelé décanteur secondaire ou clarificateur, permet ensuite la séparation solide/liquide. Une partie de la boue décantée est recirculée dans le bassin aéré, augmentant ainsi la concentration en biomasse dans le réacteur biologique et amplifiant le taux d'épuration des eaux. La partie des boues en excès est envoyée vers la filière de traitement des boues (**Khaldi, 2017**).

Synthèse bibliographique

I.6. Structure de la boue activée

La boue activée est constituée de l'ensemble « flocc-eau interstitielle » (**Khaldi, 2017**). Les floccs de boues activées sont formés par l'adhésion physico-chimique de cellules et de polluants provenant des eaux usées, ainsi que par la formation de colonies de micro-organismes. Les bactéries constituent 5 à 20% des matières organiques dans les floccs, les autres sont des substances polymères extracellulaires (EPS) (**Raszka et al. 2006**). Le liquide interstitiel représente dans la plupart des stations la qualité des eaux de sortie, c'est donc un indicateur du niveau de traitement. Ainsi, plus la charge massique est élevée, moins le niveau de traitement sera élevé et plus l'eau interstitielle contiendra de bactéries dispersées (**Khaldi, 2017**).

I.6.1. Présentation succincte de la biomasse épuratrice des boues activées

Les boues sont essentiellement composées de bactéries vivantes et mortes, aérobies facultatives de petite taille allant du micromètre au millimètre. A titre d'exemple, les Microorganismes responsables de la plupart des processus clés dans les boues activées.

I.6.2. Microorganismes responsables de la plupart des processus clés dans les boues activées

I.6.2.1. Les microorganismes responsables de l'élimination du MOS

L'élimination des matières organiques solubles (MOS) est réalisée par des microorganismes utilisant une partie du carbone contenu dans les eaux usées comme substrat, en la convertissant en nouvelle biomasse et en convertissant le reste en dioxyde de carbone CO₂. Ce dernier est libéré sous forme de gaz et la biomasse est éliminée par sédimentation. *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger*, *Azotobacter sp*, *Chroococcum sp*, *Chrysosporium sp*, *Ferroxidans*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium*, *Pleurotus ostreatus*, *Pseudomonas putida*, *Rhodobacter shaeroide*, *Thiobacillus*, sont les microorganismes responsables de la dégradation de la matière organique (**Yan et al. 2007**).

I.6.2.2. Les microorganismes responsables de l'élimination du phosphore

Le processus d'élimination biologique améliorée des phosphates montre que la libération de phosphate se produit au stade anaérobie, suivie d'un excès d'absorption

Synthèse bibliographique

du phosphate au stade aérobie. Lorsque des eaux usées entrent dans la phase anaérobie, des organismes spécialisés, appelés bactéries accumulatrices de polyphosphate, accumulent des sources de carbone telles que le polymère interne appelé polyhydroxyalcanoate ou PHA (Smolders et al. 1994). *Acinetobacter* spp. ont d'abord été proposés comme bactéries responsables de l'élimination biologique améliorée des phosphates. Les bactéries comme *Pseudomonas* spp., *Moraxella* spp., *Mycobacterium* spp., *Accumulibacter* spp., *Acinetobacter* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli*, *Alcaligenes denitrificans*, *Bacillus*, Population par litre de boues Espèces De 1 à 5 10⁵ / L Métazoaires (rotifères, nématodes) 10⁷ /L Protozoaires (flagellés, ciliés) 10¹² / L Bactéries (floculées, filamenteuses) *Cereus*, *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas mendocina*, *Moraxella phenylpyrovica*, ont également la capacité d'accumuler du phosphore. (Yan et al., 2007).

I.6.2.3. Microorganismes responsables de l'élimination de l'azote (nitrification et dénitrification)

L'azote présent dans les eaux usées sera converti en azote gazeux et rejeté dans l'atmosphère par le biais de trois transformations biologiques majeures lors de l'élimination de l'azote. Les trois transformations biologiques sont l'ammonification, la nitrification et la dénitrification. (Strouset al., 2002). *Acinobacteriasp*, *Bacteriodetes*, *Brocadia anammoxidans*, *Fimicutes*, *Proteobacteriaplanctomycetes*, *Pseudomonas* spp., *Nitospira*, *Nitrosomonas oligotropha*, *Verrucomicrobia*, Font partie des microorganismes responsables de l'élimination de l'azote (Yan et al., 2007). D'après Gamble et al. (1977) les *Pseudomonas spp. fluorescents* sont des bactéries dénitrifiant. Capable de s'adapter au manque d'oxygène par l'utilisation des oxydes d'azote comme accepteurs alternatifs d'électrons (Stewart, 1988). La majorité des études taxonomiques sur les *Pseudomonas spp. fluorescents* a révélé la complexité et la variabilité au niveau des différentes espèces appartenant à ce groupe (Palleroni et Stanier, 1964 ; Jessen, 1965 ; Stanier et al. 1966 ; Palleroni et Doudoroff, 1972 ; Champion et al. 1980 ; Digat et Gardan, 1987). L'hétérogénéité que l'on rencontre chez certaines espèces et, leurs bios vars laisse la classification des souches de *Pseudomonas spp. Fluorescents* sujette beaucoup de divergence (Bossi et al., 2000). Le genre *Pseudomonas* appartient à la classe des *Proteobacteria*, à la sous classe *Proteobacteria* et à la famille des

Synthèse bibliographique

Pseudomonaceae. Il regroupe des espèces phytopathogènes fluorescentes (*P. cichorii*, *P. tolasii* et *P. marginalis*) et non phytopathogènes (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis*, *P. aureofaciens* et *P. aeruginosa*) et des espèces à cytochrome c-oxydase négative phytopathogènes fluorescentes (*P. syringae* et *P. viridiflava*) et non fluorescentes (*P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. alcaligenes* et *P. pseudoalcaligenes*) (**Bossis et al. 2000**).

Les *Pseudomonas spp* fluorescents sont des bactéries Gram négatif, à cytochrome c-oxydase positive qui se caractérisent par un rapport de bases azotées (C + G) allant de 58 à 70%. Ces bactéries ont une forme plus au moins arrondie et présente un flagelle polaire. Elles sont de type organotrophe, strictement aérobies et fermentatives. Elles peuvent se développer dans un milieu de base riche en éléments organiques, à pH neutre et à une température comprise entre 4°C et 43°.

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

II.1. Présentation de la station d'étude :

La station d'épuration (STEP) de Béni Mered (Blida, Algérie) est située à l'Est de la route nationale N° 1 à proximité de l'oued Béni Aza (Fig,1) et fait partie des installations de protection des cours d'eau de la wilaya de Blida contre la pollution.

Cette station construite sur six hectares, traite les eaux usées domestiques et industrielles issues de la ville de Blida et sa capacité nominale depuis 2015 est de 383000 EH pour un débit de pointe de 51 560 m³/j (ONA 2015).



Figure 1: Station d'épuration de Béni Mered (Photo originale)

Notre étude a été réalisée au niveau de laboratoire de la station d'épuration de Béni Mered, laboratoire d'hygiène de Blida et Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimique (CRAPC) à Bou-Ismaïl, Tipaza, durant la période allant 29/03/2022 au 08/06/2022.

Matériel et méthodes

L'objectif de ce présent travail est divisé en deux parties :

- La première partie concerne un suivi des paramètres physico-chimiques des eaux usées brutes et traitée et des analyses physiques de boue activée pour vérifier l'efficacité de traitement d'épuration effectués au niveau de la station d'étude.
- La seconde partie s'est basé sur l'identification et la caractérisation microbiologique des boues activées à travers l'isolement de quelque bactérie épuratrice appartenant au genres les plus connus par cette activité : *Pseudomonas* , *Bacillus* , *Esherichia* et *Cétrobacter*.

II.2. Matériel et méthode

II.2.1. Matériel

II.2.1.1. Matériel biologiques

Deux prélèvements ont été effectués le 11/05/2022 et 16/05/2022 pour chaque échantillon :

- Eau usée brute (EB)
- Eau usée traité (ET)
- Boue activé (BA)

II.2.1.2. Matériels non biologiques

Pour effectuer les analyses physico-chimiques, microbiologiques et moléculaire, nous avons utilisé des appareils, la verrerie, des réactifs et des milieux de culture voir (annexes).

II.2.2 Méthodes

II.2.2.1 Prélèvement des échantillons

Trois types de prélèvement ont été mené (**Fig.2**) :

- Prélèvement automatique (préleveur automatique) d'eau brute (EB) à l'entrée de la S.T.E.P, après le dessaleurs-déshuileur.
- Prélèvement manuel d'eau traitée (ET) à la sortie de la S.T.E.P, après la décantation secondaire.
- Prélèvement manuel de boue activée (BA) au niveau de bassin biologique.

Matériel et méthodes

Il est à noter que les échantillons de boue activée ont été analysés dans un délai de 24 heures au maximum, afin d'éviter toute modification des concentrations des micro-organismes.

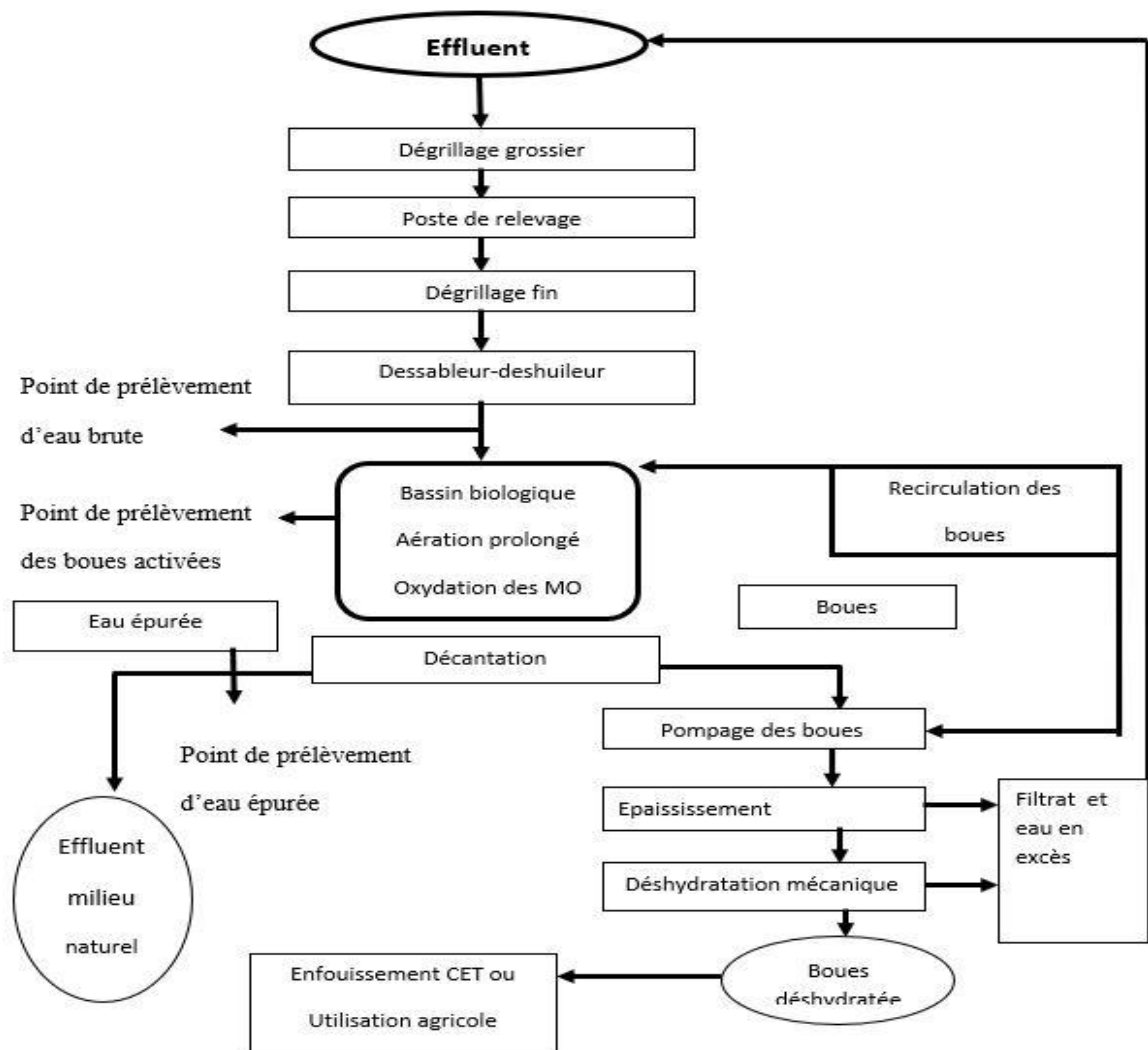


Figure.2 : Schéma générale de STEP de Beni Mered(ONA, 2015).

II.3. Les analyses physico-chimiques des eaux usées

II.3.1. Mesure de la température

La mesure de la température a été effectuée par l'utilisation d'une sonde thermométrique Pocket pro(Hach) qui est trempée soigneusement dans la prise d'essai. La lecture est faite après stabilisation du thermomètre (ONA, 2015).

II.3.2. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)

Il consiste à mesurer la différence de potentiel existant entre une électrode de verre

Matériel et méthodes

et une électrode de référence plongeant dans une même solution. Le pH-mètre sens ION (Hach) est doté d'une électrode en platine(ONA, 2015).

Le protocole est le suivant :

- ✓ Allumer le pH-mètre et rincer plusieurs fois l'électrode avec de l'eau distillée.
- ✓ Prendre environ 100 ml d'eau à analyser dans un bécher.
- ✓ Plonger ensuite l'électrode dans le bécher et agiter doucement.
- ✓ Laisser stabiliser un moment, puis noter la valeur finale du pH.

II.3.3. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique est une mesure de courant conduit par les ions présents dans l'eau. La détermination se fait directement à l'aide d'un conductimètre HACH HQ430d(ONA, 2015).

Nous avons procédé comme suit :

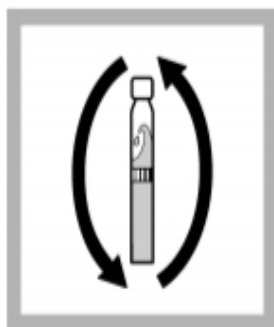
- ✓ Allumer le conductimètre et rincer plusieurs fois la sonde du conductimètre avec de l'eau distillée.
- ✓ Prendre une quantité suffisante d'eau à analyser dans un bécher.
- ✓ Mettre l'électrode dans le bécher, puis appuyer sur la touche READ, la valeur de la conductivité s'affiche sur l'écran de l'appareil avec une unité de micro Siemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$) ou bien milli Siemens par centimètre (mS/cm).

II.3.4. Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène, notée DCO, représente la quantité d'O₂ consommé par toutes les matières réductrices (ONA, 2015). Les substances oxydables réagissent avec le bichromate de potassium sulfurique, en présence de sulfate d'argent. Le chlorure est masqué avec du sulfate de mercure. La coloration verte du Cr³⁺ sera déterminée photométriquement.

Matériel et méthodes

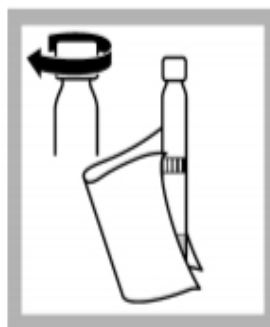
Procédure



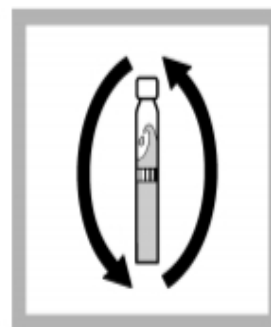
1. Mélanger le contenu pour avoir une solution homogène.



2. Pipetter soigneusement 2.0 mL d'échantillon.



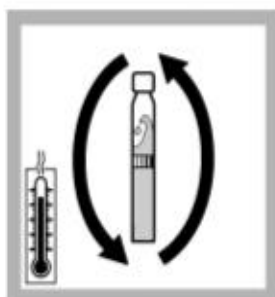
3. Fermer la cuve, bien nettoyer l'extérieur de la cuve.



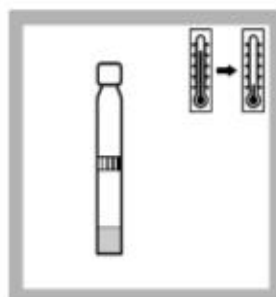
4. Retournez.



5. Chauffer dans le thermostat.
DCO classique: 2 heures à 148 °C (298.4 °F).
HT 200 S: 15 minutes avec le programme standard HT.



6. Sortir la cuve **chaude**.
DCO classique: Retourner deux fois soigneusement.
HT 200 S: Après le déverrouillage, retourner deux fois soigneusement.



7. Laisser **refroidir** à température ambiante.
COD classic: dans le support de cuve.
HT 200 S: dans le thermostat.



8. Bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.
Remarque : Les résidus doivent être **complètement éliminés** avant l'évaluation.



9. Insérer la cuve dans le compartiment pour cuves.
DR 1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus.
Sélectionner le test, appuyer sur **MESURER**.

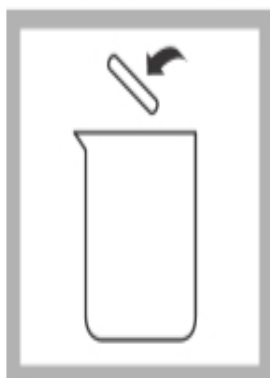
Figure 3: Schéma résumant la méthode utilisée pour la détermination de la demande chimique en oxygène (DCO)

Matériel et méthodes

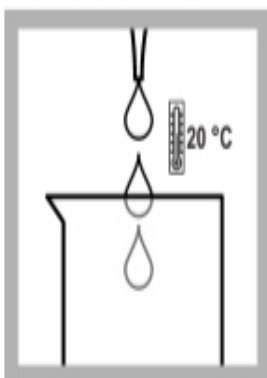
II.3.5. Détermination de la demande biochimique en oxygène(DBO)

Les micro-organismes présents dans un échantillon d'eau qui contient de la matière organique biodégradable consomment l'oxygène et produisent une quantité équivalente en anhydride carbonique (CO₂) (ONA, 2015).

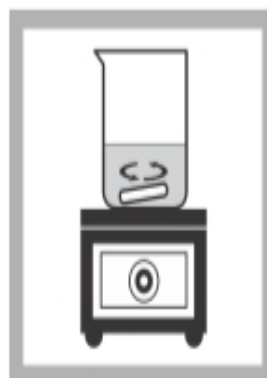
Procédure—Préparation d'échantillon



1. Homogénéisation de l'échantillon: placer l'axe de l'agitateur magnétique dans un **bécher**.



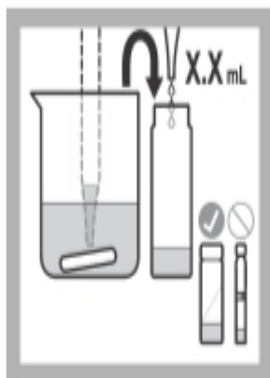
2. Ajouter de l'échantillon dans le bécher.



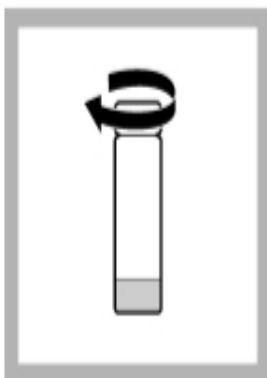
3. Mettre le bécher sur l'agitateur magnétique.



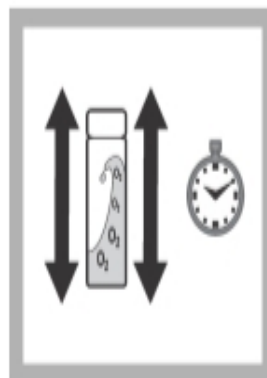
4. Agiter durant **5 minutes** à 700–900 tours/min.



5. Pipetter l'échantillon et l'eau de dilution préparée comme décrit dans [2. Préparation d'échantillon](#) à la page 2 dans le tube de réaction.



6. Fermer l'éprouvette de réaction.

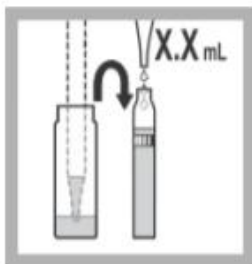


7. Agiter **vigoureusement** pendant **1 minute** pour enrichir l'échantillon en oxygène.

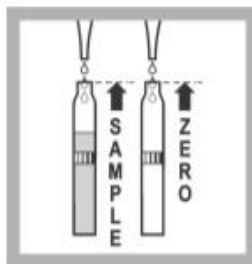
3. Procédure—Remplissage des cuves avec l'échantillon et l'eau de dilution



1. Ouvrez l'éprouvette de réaction



2. Pipetter le volume d'échantillon requis (X.X mL) préparé comme décrit dans 2. Préparation d'échantillon à la page 2 dans la cuve d'échantillon.



3. À l'aide d'une pipette de transfert remplir la cuve cuve d'échantillon et la cuve zero à ras bord en évitant la formation de bulles d'air. Pipetter l'eau de dilution régulièrement dans les cuves.

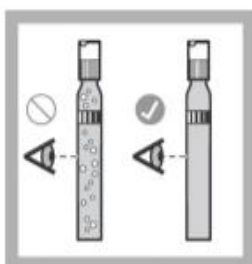
Par jour d'analyse, **une** cuve remplie uniquement avec de l'eau de dilution, doit servir de valeur à blanc pour toutes les valeurs de mesure. En cas de séries d'analyses, **une seule** cuve d'eau de dilution est nécessaire.



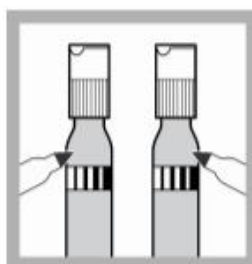
4. L'eau de dilution excédentaire se trouvant dans la pipette de transfert sera rejetée après remplissage de la cuve.



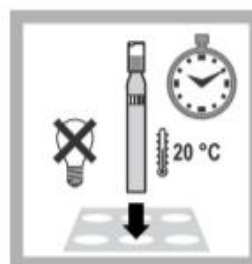
5. Fermer à nouveau les cuves à l'aide de DosiCapZip.



6. Assurez-vous qu'il n'y a aucune bulle d'air dans les cuvettes.

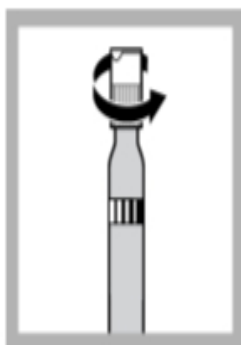


7. Étiqueter les cuves en indiquant le niveau de dilution et le type d'échantillon sur chaque cuve afin de les identifier facilement après 5/[n] jours.

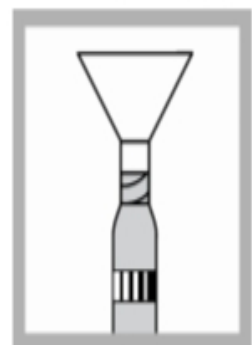


8. Ensuite, stocker pendant 5/[n] jours à l'abri de la lumière dans le thermostat tempéré à 20 °C (68° F).

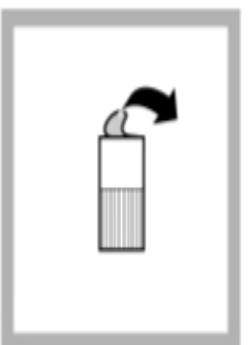
4. Procédure Evaluation DBO après 5/[n] jours



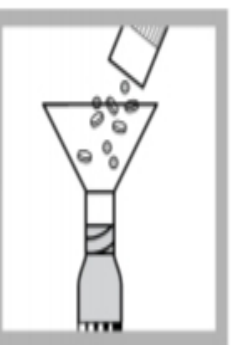
1. Dévissez le DosiCapZip de la cuve d'eau de dilution.



2. Poser l'entonnoir sur la cuve d'eau de dilution.



3. Ôter soigneusement la feuille du DosiCapZip.



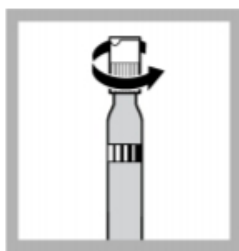
4. Verser le contenu (comprimés de réactif et perles de verre) dans la cuve d'eau de dilution.

Matériel et méthodes

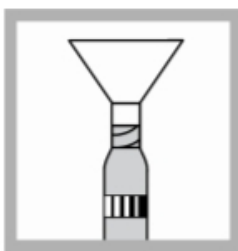


5. Enlever l'entonnoir et fermer immédiatement la cuve d'eau de dilution avec le DosiCapZip en évitant la formation de bulles d'air.

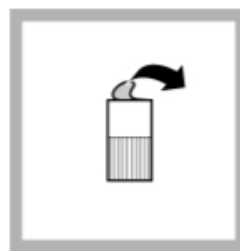
Remarque : Si le ménisque de niveau du liquide se trouve sous l'ouverture de la cuve – une fois l'entonnoir retiré – corriger le volume manquant en ajoutant à la cuve 2 à 4 perles de verre.



6. Dévissez le DosiCapZip de la cuve d'échantillon.



7. Poser l'entonnoir sur la cuve d'échantillon.



8. Ôter soigneusement la feuille du DosiCapZip.



9. Verser le contenu (comprimés de réactif et perles de verre) dans la cuve d'échantillon.



10. Enlever l'entonnoir et fermer immédiatement la cuve d'échantillon avec le DosiCapZip en évitant la formation de bulles d'air.

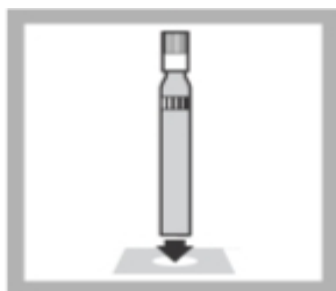
Remarque : Si le ménisque de niveau du liquide se trouve sous l'ouverture de la cuve – une fois l'entonnoir retiré – corriger le volume manquant en ajoutant à la cuve 2 à 4 perles de verre.



11. Agiter les cuve à plusieurs reprises durant 3 minutes, jusqu'à ce que les comprimés de réactifs soient complètement dilués.



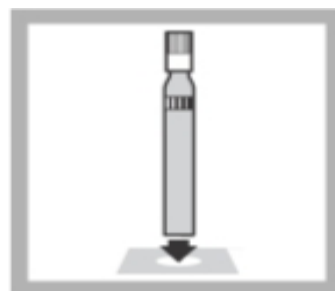
12. Après encore 3 minutes, bien nettoyer l'extérieur de la cuves et évaluer.



13. Insérer la cuve d'eau de dilution dans le compartiment pour cuves. DR1900 : Accéder à méthodes LCK/TNTplus. Sélectionner le test, appuyer sur **ZERO**.



14. Retirer la cuve d'eau de dilution.



15. Insérer la cuve de l'échantillon dans le compartiment pour cuves. DR1900: appuyer sur **MESURER**.

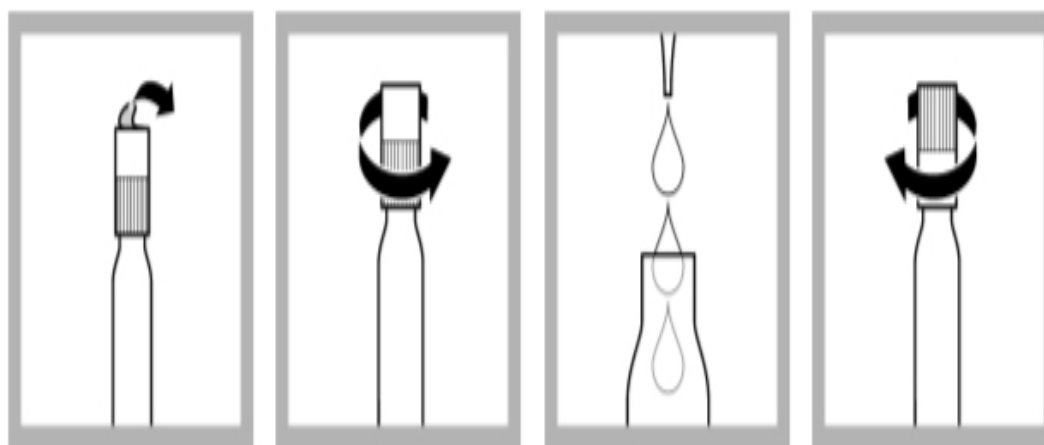
Figure 4: Schéma résumant la méthode utilisé pour la détermination de la demande biochimique en oxygène(DBO)

Matériel et méthodes

II.3.6. Dosage de l'azote ammoniacal par méthode Kit Hach LCK303/LCK 305.

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration de l'Azote Ammoniacale allant de 2-47 mg/l, 1-12mg/l, NH₄-N (ONA, 2015).

Procédure

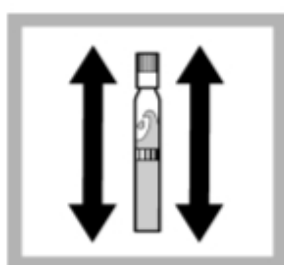


1. Enlevez délicatement la feuille de protection du DosiCap Zip détachable.

2. Dévissez le DosiCap Zip.

3. Pipetter soigneusement 0.2 mL d'échantillon.

4. Vissez immédiatement le DosiCap Zip en dirigeant les cannelures vers le haut.



5. Secouer énergiquement jusqu'à ce que le lyophilisat se soit complètement dissous.



6. Après 10 minutes, retourner de nouveau, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.



7. Insérer la cuve dans le compartiment pour cuves. DR 1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus. Sélectionner le test, appuyer sur **MESURER**.

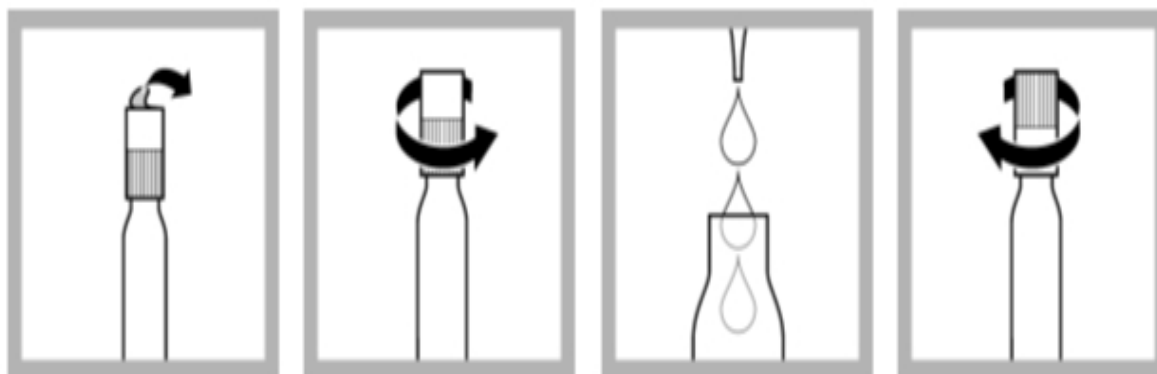
Figure 5: Schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage de l'azote ammoniacal

Matériel et méthodes

II.3.7. Dosage des nitrites (N-NO₂) par méthode KIT Hach LCK 341

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration des nitrites allant de 0,015-0,6 mg/l, 0,6 – 6,0 mg/l NO₂-N (ONA, 2015).

Procédure

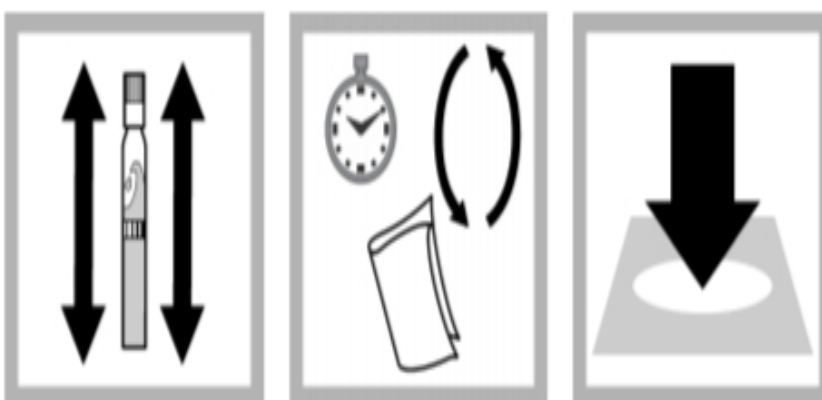


1. Enlevez délicatement la feuille de protection du DosiCap Zip détachable.

2. Dévissez le DosiCap Zip.

3. Pipetter soigneusement 2.0 mL d'échantillon.

4. Vissez immédiatement le DosiCap Zip en dirigeant les cannelures vers le haut.



5. Secouer **énergiquement** jusqu'à ce que le lyophilisat se soit **complètement dissous**.

6. Après **10 minutes**, retourner de nouveau, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.

7. Insérer la cuve dans le compartiment pour cuves. DR 1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus. Sélectionner le test, appuyer sur **MESURER**.

Figure 6: Schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage des nitrites (N-NO₂)

Matériel et méthodes

II.3.8. Dosage des nitrates (N-NO₃) par méthode kit Hach LCK339

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration des nitrates de 0,23–13,5 mg/l NO₃-N (ONA, 2015).

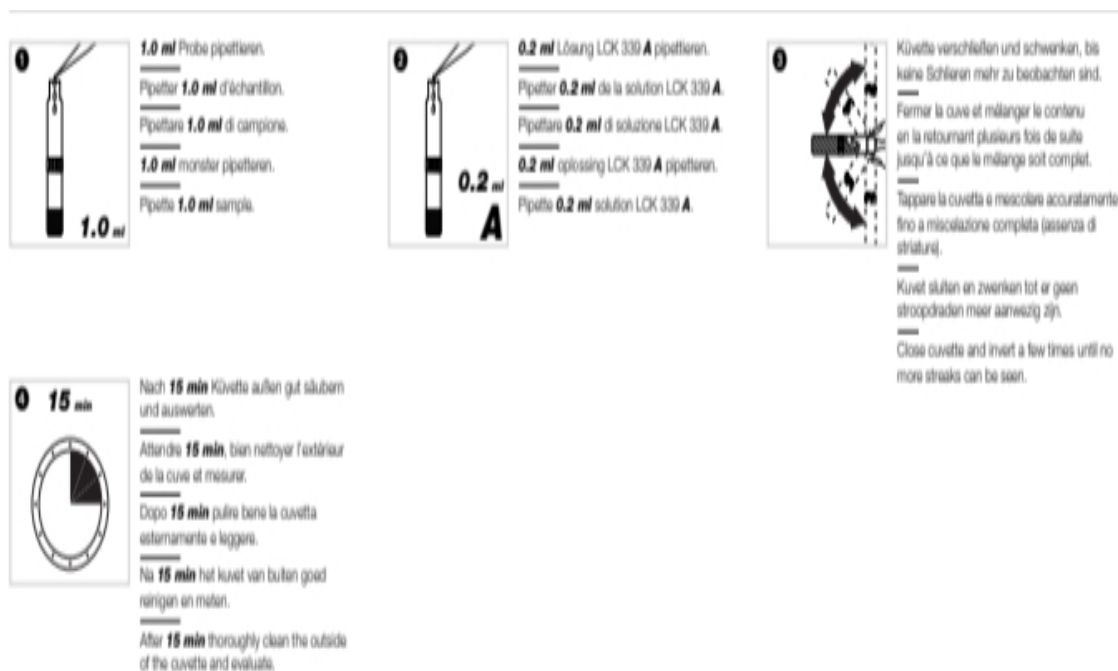


Figure 7: Schéma résumant la méthode utilisée pour le Dosage des nitrates (N-NO₃)

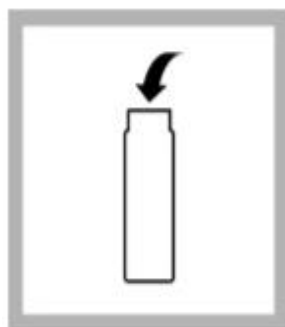
II.3.9. Dosage d'azote Total (NT) par méthode Kit Hach LCK338/LCK238

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration d'azote total pour les deux gammes : 20 – 100 mg/l (haute gamme) et 5 – 40 mg/l (basse gamme) (ONA, 2015).

L'évaluation de la quantité d'azote total consiste à :

Matériel et méthodes

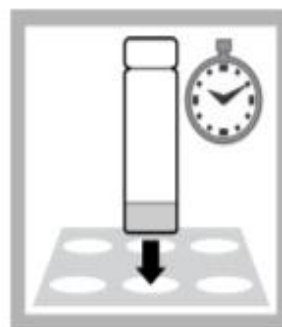
Procédure



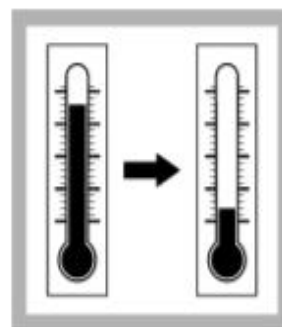
1. Doser **à la suite, consécutivement** dans une éprouvette de réaction sèche: 0.2 mL d'échantillon, 2.3 mL de solution A, 1 tablette B.



2. Fermer l'éprouvette de réaction **immédiatement**. **Ne pas retourner.**



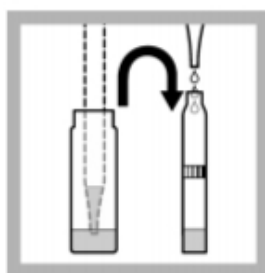
3. Chauffer **directement**.
HT 200 S: 15 minutes avec le programme standard HT.
Thermostat: pour 30 minutes à 120 °C (248 °F).



4. Laisser **refroidir** à température ambiante.



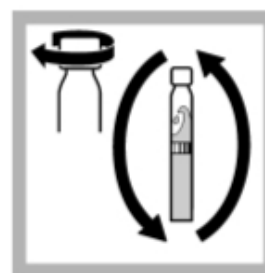
5. Retourner plusieurs fois.



6. Pipetter **lentement** dans le Test en Cuve: 0.5 mL d'échantillon désagrégé.



7. Pipetter **lentement** 0.2 mL de solution D.



8. Fermer **immédiatement** la cuve et mélanger le contenu en la retournant plusieurs fois de suite jusqu'à **qu'aucun dépôt ou agrégat** ne soit observable.



9. Après 15 minutes, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.



10. Insérer la cuve dans le compartiment pour cuves. DR 1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus. Sélectionner le test, appuyer sur **MESURER**.

Figure 8: Schéma résumant la méthode utilisée pour le Dosage d'azote Total (NT)

II.3.10. Dosage de Phosphate Total (PT) par méthode Kit Hach LCK 350/348

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration des phosphates allant de 2 – 20mg/l, 0,5 – 5mg/l PO₄-P (ONA 2015).

Procédure Phosphore total



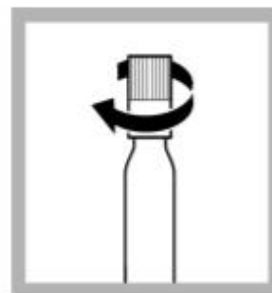
1. Enlevez délicatement la feuille de protection du DosiCap Zip détachable.



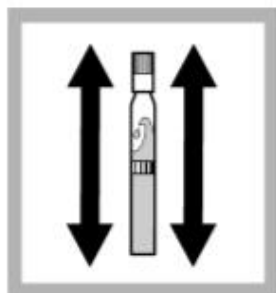
2. Dévissez le DosiCap Zip.



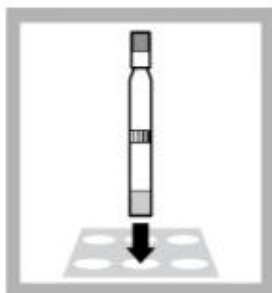
3. Prélevez soigneusement 0.4 mL d'échantillon.



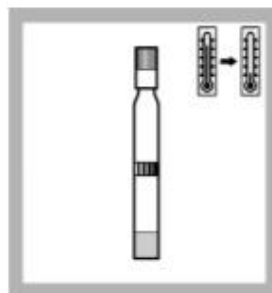
4. Revissez immédiatement et serrez le DosiCap Zip sur la cuve; dirigeant le cannelage vers le haut.



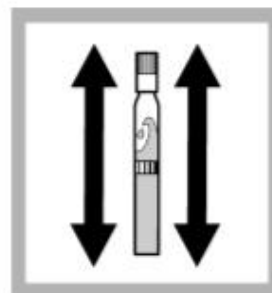
5. Secouez énergiquement.



6. Chauffer dans le thermostat.
HT200S: 15 minutes avec le programme standard HT.
Thermostat:
pour 60 minutes à 100° C (212° F) ou
pour 30 minutes à 120 °C (248 °F).



7. Laisser refroidir à température ambiante.
REMARQUE: Vérifiez que le bouchon soit bien maintenu serré après refroidissement.



8. Secouez énergiquement.



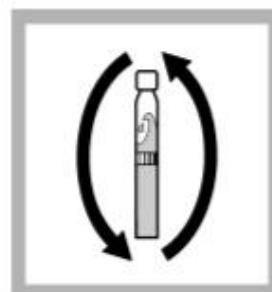
9. Dévissez le DosiCap Zip.



10. Pipetter dans la cuve une fois refroidie: 0.5 mL de réactif B. Fermer immédiatement le réactif B après emploi.



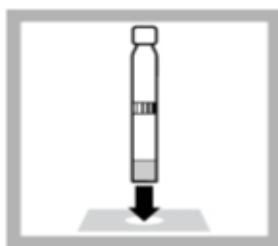
11. Visser un DosiCap C gris sur la cuve.



12. Retourner plusieurs fois jusqu'à ce que le lyophilisat se soit complètement dissous.



13. Après 10 minutes, retourner de nouveau, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.



14. Insérez la cuve dans le porte-cuve.
DR1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus. Sélectionnez le test, appuyez sur **MESURER**.

Procédure Orthophosphate



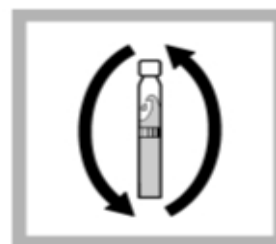
1. Prélevez soigneusement 0.4 mL d'échantillon.



2. Pipetter 0.5 mL de réactif B. Fermer immédiatement le réactif B après emploi.



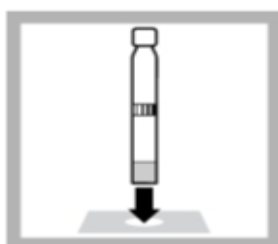
3. Visser un DosiCap C gris sur la cuve.



4. Retourner plusieurs fois jusqu'à ce que le lyophilisat se soit complètement dissous.



5. Après 10 minutes, retourner de nouveau, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.



6. Insérez la cuve dans le porte-cuve.
DR1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus. Sélectionnez le test, appuyez sur **MESURER**.

Figure 9 : Schéma résumant la méthode utilisée pour le Dosage de Phosphate Total (PT)

II.4. Caractérisation physique et microbiologique des boues activées.

II.4.1. Analyse physique de boue activée

II.4.1.1. Détermination des matières en suspension (MES)

Les matières en suspension (exprimé en g/L) représentent la fraction non dissoute des effluents responsables de la turbidité de l'eau (ONA, 2015). Pour déterminer ce paramètre, on doit procéder par une centrifugation d'un volume V de l'échantillon à analyser, en raison de 3000 tour/min pendant 15 minutes.

Matériel et méthodes

- Le culot va être récupéré et étuvé à 105°C pendant 24 heures dans un Creuset de masse M_0 préalablement séché à 105°C.

- La masse M_1 de l'ensemble creuset contenant le culot séché va être pesée.

- La MES est calculée selon la formule suivante : $MES (g/l) = \frac{M_1 - M_0}{V} \times 1000$

Avec :

M_0 : masse (en g) du creuset vide.

M_1 : masse (en g) du creuset après étuvage.

V : volume (en ml) de l'échantillon.

II.4.2. Analyse microbiologique des boues activées

II.4.2.1. Isolement des bactéries dépolluantes

Afin d'isoler les genres bactériens ciblés, un ensemencement en surface par étalement d'une 0,1 ml de la suspension de boues activées diluée est préparée sur le milieu de culture adéquat à chaque genre (**Botton et al, 1990**), en respectant les conditions d'asepsie et en manipulant toujours dans la zone stérile.

Nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- Milieu cétrimide (**annexe 1**), pour l'isolement des bactéries du genre *Pseudomonas* les boîtes ensemencées sont incubées à 30°C pendant 24 heures.
- Milieu Amidon (**annexe 1**), pour l'isolement des bactéries du genre *Bacillus* les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 heures.
- Milieu Mac conkey (**annexe 1**), pour l'isolement des bactéries du genre *Escherichia* et *Citrobacter*, les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

II.4.2.3. Purification des souches

La purification des bactéries isolées a été établie par la réalisation des subcultures sur bouillon (apparition de trouble dans le milieu liquide) et sur milieux sélectifs de chaque souche jusqu'à l'obtention des colonies pures bien distincte et homogène.

Matériel et méthodes

II.5. Caractérisation macroscopique et microscopique

II.5.1. Caractérisation macroscopique

L'observation macroscopique des cultures a été réalisée après 24 heures d'incubation à 28°C et 37°C en comparant les cultures pures obtenues avec des souches de références (Bactériothèque du laboratoire d'Hygiène de Blida) on se basant surtout sur la taille, la forme, la couleur, l'aspect et la pigmentation des colonies. Cela nous a permis de prélever et de sélectionner seulement les colonies appartenant aux genres bactériens ciblés : *Pseudomonas.*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Cérobacter*.

II.5.2. Caractérisation microscopique

➤ Coloration de Gram

C'est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'arrangement (mode d'assemblage), la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Cette coloration permet de classer les bactéries selon leur capacité à fixer le cristal violet. Celles qui possèdent une enveloppe externe sont décolorées lors du lavage à l'éthanol (Gram-), alors que celles qui n'en possèdent pas vont retenir le colorant (Gram+).

La consistance et la valeur de la coloration de Gram correspond à des différences biochimiques entre la paroi des bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif (Boussena, 2020).

II.6. Caractères biochimiques :

II.6.1. Test de lugol

Une culture bactérienne de *Bacillus* ensemencé sur un milieu d'amidon âgée de 24h a été submergée par ce le lugol ; la lecture de ce test est comme suit :

- Absence de couleur noir autour de la culture bactérienne → test positif
- Présence de couleur noir autour de la culture bactérienne → test négatif

II.6.2. Test d'oxydase

Ce test vise l'identification des bactéries Gram-, une goutte d'une suspension bactérienne pure est déposée sur un disque oxydase, ce dernier est mis sur une lame

Matériel et méthodes

propre et stérile. Les bactéries oxydase-positives montrent rapidement une coloration violette foncée et dans le cas contraire, aucune coloration est enregistrée (**Boussena, 2020**).

II.6.3. La galerie Api 20 E :

Une galerie API est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés (**Boussena, 2020**).

Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne préparée dans une eau physiologique. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture des résultats est faite suivant le catalogue API20E. L'identification est réalisée par le logiciel API WEB.

II.7. Caractères moléculaire protéique

II.7.1. Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF/MS)

Le Principe de la spectrométrie de masse MALDI-TOF

La spectrométrie de masse MALDI-TOF La spectrométrie de masse MALDI-TOF est une nouvelle technologie qui est apparue en 2011 dans le domaine de microbiologie en identifiant les germes selon l'analyse direct de leurs protéines. Cette méthode présente des avantages énormes dans la fiabilité et la rapidité des résultats. Ce test est réalisé au niveau du Centre de Recherche des Analyses Physico-chimiques (Tipaza).

Elle est basée sur l'ionisation des échantillons. L'échantillon couvert d'une matrice ionisante est bombardé par un laser (337 nm, 20Hz). En étant désorbés de la plaque inerte, les particules ionisables sont accélérées dans un champ électrique en leur imprimant un temps de vol dans un tube où un vide poussé (10^{-10} Bar) est maintenu La molécule résorbée est projetée Vers un détecteurs. Son temps de vol est proportionnel à sa masse (m) et sa charge (z). Alors que le dépôt est réalisé sur un disque de 3 mm de diamètre, l'obtention d'un spectre moyen et représentatif s'effectue après avoir réalisé un nombre prédéfini de tirs laser sur la surface qu'occupe l'analyte.

Matériel et méthodes

Ces spectres, acquis selon les paramètres fixés par l'utilisateur seront conservés si le ratio signal sur bruit est satisfaisant. Ainsi, un spectre représentant une souche est en fait la somme du nombre prédéfini au préalable dans l'acquisition des spectres accumulés et moyennés dans la gamme de masse souhaitée.

Les étapes de l'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF

- Prélèvement de la colonie bactérienne avec un cône.
- Dépôt de la colonie sur le spot de la plaque et ajout de la matrice sur chaque spot.
 - La plaque comprend plusieurs spots permettant d'identifier séquentiellement plusieurs échantillons.
 - Insertion de la plaque dans le spectromètre de masse.
 - la désorption-ionisation laser assistée par matrice.
 - Lecture des résultats sur le poste de travail informatique associé au spectromètre et envoi informatisé des résultats au système informatique du laboratoire.

II.8. Conservation des isolats

II.8.1. Conservation courte durée

La conservation à court terme des souches pures est effectuée sur milieu TSA solide incliné. Après croissance à température optimale, les cultures sont maintenues à 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les six mois (**Badiset al. 2005**).

II.8.2. Conservation longue durée

Le milieu de conservation contient 70% des cultures de 18h (milieu liquide) et 30% de glycérol (98%). Les cultures sont conservées en suspension dense et en tubes éppendorfs stérile à -20°C (**Badiset al. 2005**).

Résultats et interprétation

Résultats et interprétation

Ce chapitre présente les résultats et la discussion des analyses physico-chimiques, microbiologiques et moléculaires effectuées, selon les méthodes décrites dans le chapitre précédent, nous avons obtenu les résultats suivants :

III.1. Paramètres physico-chimiques des eaux usées (brutes et traitées)

Les résultats d'analyses physico-chimiques des différents échantillons des eaux à savoir : Eau brute (EB) et Eau traité (ET) effectués pour montrer la qualité des eaux usées de la station de Beni Mered avant et après traitements par les boues activées sont illustrés dans les **(tableaux 3)**. Les résultats obtenus sont comparés avec les normes de l'OMS et JORA afin d'évaluer la qualité de ces eaux étudiées.

III.1.1. Température

Les températures enregistrées à l'entrée des eaux usées et à la sortie après traitement sont comme suit, les valeurs des moyennes de la température des eaux brutes (EB) sont de (15,2 à 22,4°C) et les valeurs des eaux traitées (ET) sont (14,0 à 20,6°C),**(Tableau 3)**.

D'après les résultats obtenus, les valeurs de la température indiquent une légère diminution de l'entrée vers la sortie **(Tableau 3)**. Ces résultats sont conformes aux normes publiées dans **(JORA) Journal Officiel de la République Algérienne (2006)** qui indiquent que la température d'une eau épurée ne doit pas dépasser 30°C. Les eaux épurées des stations d'épuration BeniMerred Blida sont donc dans les normes.

Les températures de l'effluent traité restent toujours inférieures à celles enregistrées au niveau des eaux brutes. Ces valeurs varient en fonction de l'heure de prélèvement et des conditions météorologiques, sachant que l'augmentation de la température favorise l'autoépuration et l'accroissent de la vitesse de sédimentation, ce qui présente un intérêt dans les stations d'épuration.

III.1.2. Potentiel hydrique (pH)

Les valeurs du pH obtenues dans notre étude révèlent une augmentation à l'entrée et à la sortie au niveau de la station d'épuration. Les résultats enregistrés sont comme suit EB de (7,12 à 7,45) et celles enregistrés sur les eaux usées traitées sont, ET de

Résultats et interprétation

(7,42 à 7.89) ils sont en accord avec ceux obtenus par (Bounoud, 2006). De même, ces valeurs sont généralement comprises entre 6,5 et 8,5 considérées comme valeurs limites de rejets directs dans le milieu récepteur (JORA, 2006).

Le pH, indique aussi l'alcalinité des eaux usées, son rôle est capital pour la croissance des microorganismes qui ont généralement un pH optimum variant de 6,5 à 7,5. Lorsque le pH est inférieur à 5 ou supérieur à 8,5, la croissance des microorganismes est directement affectée. En outre, le pH est un élément important pour l'interprétation de la corrosion dans les canalisations des installations de l'épuration (Driss et al. 2009).

III.1.3. La conductivité électrique

Les eaux usées brutes (EB) ont montré des valeurs de conductivité électrique qui varie de (1421 à 1532) par contre dans les eaux usées traitées (ET) la conductivité électrique est de (1255 à 1503), cela est probablement due au traitement biologique de l'eau usée, Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Bounoud, 2006).

La conductivité électrique est probablement l'une des plus simples et des plus importantes pour le contrôle de la qualité des eaux usées. Elle traduit le degré de minéralisation globale, elle nous renseigne sur le taux de salinité de ces eaux ? les valeurs de conductivité électrique élevées traduisent selon (Gaujous, 1995) une minéralisation importante indique une certaine richesse en sels, expliquant les valeurs élevées enregistrées toujours à l'entrée.

Tableau 3 : Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (pH, T, CE).

Les analyses	E1		E2		Normes JORA
	Eau usée brute	Eau usée traitée	Eau usée Brute	Eau usée traitée	
pH	7,12	7,42	7,45	7,89	6,5-8,5
T (°C)	15,2	14,0	22,4	20,6	<30
CE (µS/cm)	1532	1503	1421	1255	ND

ND : Non déterminé

Résultats et interprétation

III.1.4. Paramètres de la pollution organique

➤ La demande chimique en oxygène (DCO)

Les résultats de la demande chimique en oxygène (DCO) enregistrés dans nos échantillons (tab) montrent une forte diminution de la pollution carbonée de l'entrée à la sortie des eaux usées, les résultats montrent à l'entrée (EB) une quantité moyenne de DCO de (303 à 319 mg/l) et, les valeurs de la DCO de l'eau traitée (ET) elle varie de E1 (28,9 mg/l) à E2 (25,8 mg/l), les valeurs obtenues dans les échantillons testés (EB) et (ET) répondent aux normes algériennes, qui indiquent que les rejets doivent être (<120 mg/l) et à celles de la communauté européennes (<125 mg/l) ainsi qu'aux normes de l'OMS (<90 mg/l) (JORA, 2006).

➤ La demande biologique en oxygène (DBO₅)

La DBO₅ fournit donc une des indications importantes permettant de juger la qualité d'une eau et de son degré de pollution, la valeur DBO₅ enregistré dans notre étude diminue de l'entrée à la sortie, la moyenne de la valeur de ce paramètre enregistré sur (EB) varie de (162 à 192 mg/l) et de (6 à 6.1 mg/l) dans l'eau usée épurée (ET), l'abaissement de ces valeurs de la DBO₅ dans l'eau épurée est dû au passage dans le dessableur, et dans les bassins d'aérations qui permettent l'élimination d'une quantité de la DBO₅ (pourcentage considérables des matières organiques et des matières minérales), mais la grande quantité de la DBO₅ est éliminée.

D'après Bliefert et Perraud (2001), elle est associée au maximum du développement de l'abondance bactérienne et une diminution de la teneur en oxygène suite à la consommation de ce dernier par les microorganismes. Selon JORA (2006), la qualité de l'eau en DBO₅ est inférieure aux normes algériennes de rejet (35 mg O₂/l). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Bounoud, 2014).

Résultats et interprétation

Tableau 4: Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (DCO, DBO5).

Les analyses	E1		E2		Normes JORA
	Eau usée Brute	Eau usée traitée	Eau usée Brute	Eau usée traitée	
DCO (mg/l)	303	28,9	319	25,8	<120
DBO ₅ (mg/l)	162	6,1	192	6,0	<35

III.1.6. Nitrites (NO₂-)

D'après les résultats obtenus au cours de notre étude, la teneur en nitrites des eaux usées brute (EB) et (ET) sont très faible il sont comme suit : pour les (EB) les valeurs varie de (0,12 à 0.32mg/l unité)et pour les eux traitée (ET) varie de(0.21 à 0.60mg/l) (**Tableau 5**), nous avons enregistré une légère augmentation entre l'entrée et la sortie r ceci s'explique par un manque d'oxygène nécessaire pour transformer les s nitrites en nitrate (la nitrification) par les micro- organismes .Les nitrites représentent la forme la moins oxygénée et la moins stable des composés azotés. Leur présence est due, soit à l'oxydation bactérienne de l'ammoniaque, soit à la réduction des nitrates (**Rejsek, 2002**).

III.1.7. Nitrates (NO₃-)

La quantité moyenne de l'azote nitrique N-NO₃- enregistré à l'entrée de la station dans l'eau brute (EB) est de 0.81mg/l. elle est inférieur à celle noté à la sortie de la station dans l'eau traité (ET) est de 5.96mg/l, ce résultat est en accord avec ceux obtenus par (**Bounoud, 2014**) et explique le déroulement de la réaction de nitrification de l'azote qui continuera sa transformation en N-NO₃- dans le bassin d'aération. Le traitement d'épuration par boue activée dans le bassin d'aération prolongé n'arrive pas à éliminer l'azote nitrique NO₃- .

III.1.8. Azote Ammoniacal (NH₄⁺)

Une réduction remarquable des valeurs de l'azote ammoniacal (NH₄⁺) a été observée dans les eaux traitées, à l'entrée de la station les valeurs varient de (25.3 à 39,1) dans l'eau brute, et à la sortie les valeurs sont de (1.2 à 2.2) dans l'eau traitée (**Tableau 5**). En effet, l'azote ammoniacal est oxydé par nitrification en nitrite NO₂-

Résultats et interprétation

un état intermédiaire, puis ce dernier est rapidement oxydé en nitrate NO_3^- . Cette transformation est effectuée en présence d'oxygène par des bactéries autotrophes nitrifiantes en deux étapes, la première étant assurée par des bactéries *Nitrosomonas* et la deuxième par des bactéries *Nitrobacter* d'après **Aubry (2003)**. L'ammonium est la forme d'azote la plus toxique. Sa présence dans l'eau est liée soit aux rejets urbains et industriels, soit par réduction des formes azotées (nitrates et nitrites) en conditions réduites (**Debieche, 2002**).

III.1.9. Azote total

L'azote détecté dans l'eau usée est la somme de toutes les formes azotées (nitrite, nitrate, ammonium et azote organique) donc l'excès de l'azote total est dû aux valeurs très élevées pour ces formes. D'après le (**tableau 5**), les valeurs des moyennes de l'azote total à l'entrée c'est-à-dire dans l'eau brute (EB) varie de (28.8mg/l à 29.6 mg/l) , tandis que à la sortie , nous avons noté une moyenne de 13.5mg/l dans l'eau épurée (ET) , la réduction des valeurs de l'azote total s'interprète par la décantation de la matière organique et l'oxydation de l'ammonium NH_4^+ . Les valeurs obtenues après traitement sont conformes à la norme algérienne qui est de 30 mg/l.

III.1.10. Ortho phosphate PO_4^{3-} et phosphore total

La teneur d'orthophosphate et de phosphore des eaux épurées (1.21 à 1) semble inférieure à celle enregistrée dans les eaux brutes (2 à 2.81) (**Tableau 5**), la diminution des teneurs de l'entrée de la station vers la sortie est due à sa consommation par les bactéries au cours du processus d'épuration. Les teneurs obtenues des ortho phosphates et de phosphore dans les eaux usées traitées ne dépassent pas la valeur limitée acceptable d'un rejet direct dans le milieu récepteur (2 mg/l) pour l'ortho phosphate et 10 mg/l pour le phosphore (**JORA, 2006**).

Selon **Rodier et al. (2005)**, le phosphore peut se trouver sous différentes formes oxydées; sous la forme acide, on trouve l'acide méta (HPO_3), pyro ($\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$) et ortho (H_3PO_4). En milieu aqueux, les acides métras et pyro tendent vers une forme plus stable: l'ortho phosphate. Pratiquement, c'est sous cette forme qu'on le rencontre dans les eaux superficielles dont le pH est compris entre 5 et 8.

Résultats et interprétation

Tableau 5: Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , NT, PO_4 , PT)

Les analyses	E1		E2		Normes JORA
	Eau usée Brute	Eau usée traitée	Eau usée Brute	Eau usée traitée	
NO_2^- (mg/l)	0,329	0,602	0,129	0,217	ND
NO_3^- (mg/l)	0,969	10,9	0,662	0,932	ND
NH_4^+ (mg/l)	39,1	2,20	25,3	1,23	ND
NT (mg/l)	28,8	19,2	29,6	8,00	30
PO_4 (mg/l)	2,00	1,21	2,81	1,00	2
PT (mg/l)	5,05	1,37	4,09	1,10	10

III.2. Caractérisation physique et microbiologique des boues activées

III.2.1. Analyse physique des boues activées MES :

La boue épuratrice étudiée montre présente une concentration de MES varié entre 2-3,5 g/l dans le bassin d'aération (**tableau 6**). Ces valeurs ne dépassent pas le seuil fixé par le manuel d'exploitation de la STEP (2 et 4 g/l), ce qui montre le bon fonctionnement de la STEP.

Tableau 6: Les résultats d'analyses des boues activées

Analyses physique	E1	E2
MES (g/l)	2	3.5
Norme	2-4g/l	

Résultats et interprétation

III.2.2. Analyses microbiologiques des boues activées

III.2.2.1. Identification des souches bactériennes

Les méthodes de caractérisation phénotypique décrites ont permis une identification préliminaire des souches bactérienne appartenant aux genres suivant: *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Citrobacteret*. *Bacillus*.

Cette identification a été basée sur les caractères macromorphologiques comparés avec des souches de référence (laboratoire d'hygiène de Blida), micromorphologiques, biochimiques et moléculaires.

III.2.2.1.1. Caractères morphologiques

III.2.2.1.1.1. Observation macroscopique

Après une séries de répétions nous avons purifié les genres bactériens suivants : *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Citrobacteret* *Bacillus*, chaque genre a été mis en culture sur son milieu adéquat (soit des milieux sélectifs, ou sur des milieux enrichis et parfois les deux)

a) Le genre bactérien : *Pseudomonas*

Sur le milieu cétrimide nous avons enregistré la présence des colonies du genre *Pseudomonas* avec une forme renflée, foncée, circulaire de texture muqueuse et homogène, avec une pigmentation fluorescente de couleur jaune verdâtre diffusible dans le milieu(**Fig 10A**). Ces mêmes caractéristiques ont été constatées chez les *Pseudomonas fluorescent* dans les travaux de **Itim et El bar (2013)**.

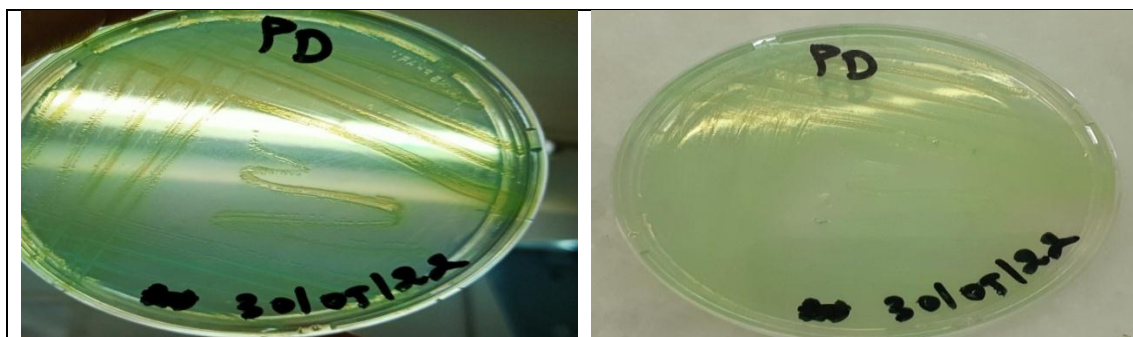


Figure 10A : Aspect macroscopique de *Pseudomonas sp* sur milieu cétrimide, isolé à partir de la boue activée.

Résultats et interprétation

Nous avons aussi enregistré une autre espèce du genre *Pseudomonas* sur le milieu cétrimide dont nous avons noté la présence des colonies avec des formes plates et étalées (fig 10B)

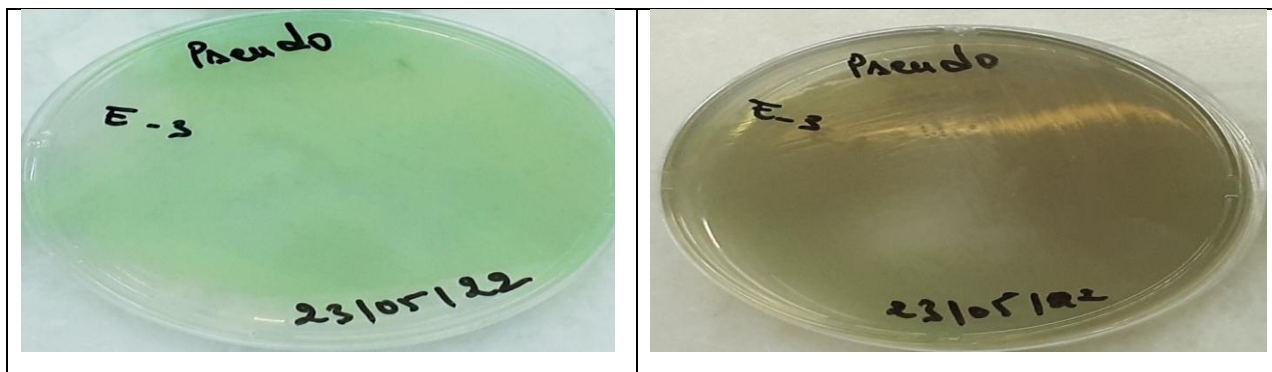


Figure 10 B: Aspect macroscopique de *Pseudomonas sp* sur milieu cétrimide , isolé à partir de la boue activée.

Même milieu, mais nous avons noté la présence des petites colonies de couleur jaune claire brillant de forme régulière (Fig 10C)

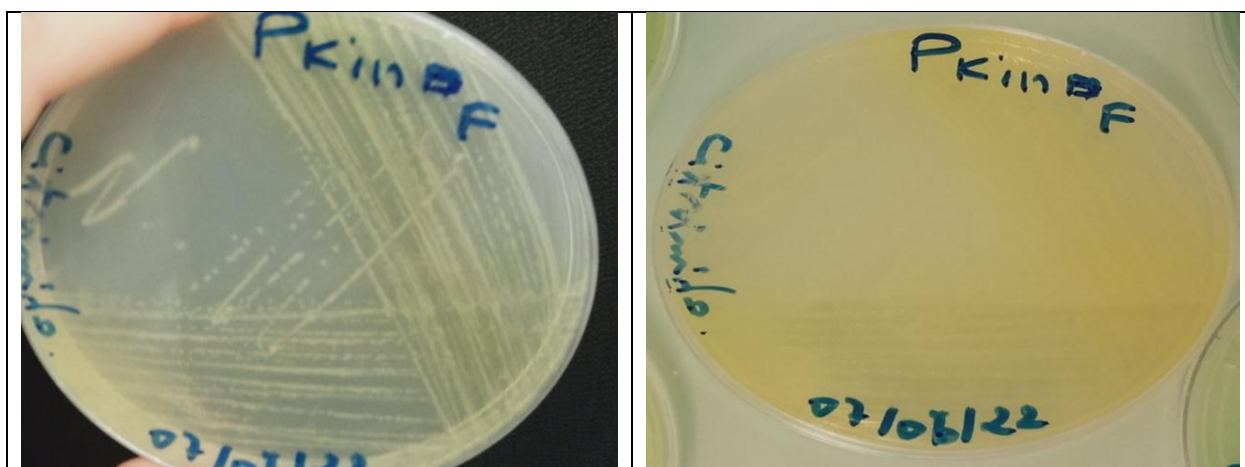


Figure 10 C: Aspect macroscopique de *Pseudomonas sp* sur milieu cétrimide, isolé à partir de la boue activée

b) Observation macroscopique d'*Escherichia* :

Les colonies d'*Escherichia coli* sur gélose MacConkey ont montré une couleur roses à rose foncé, les colonies présenter une forme œuf sur le plat, L'observation de **james et al (2011)**,est similaire avec l'observation que nous avons enregistrée, dans notre expérimentation(**fig 11**).

Résultats et interprétation

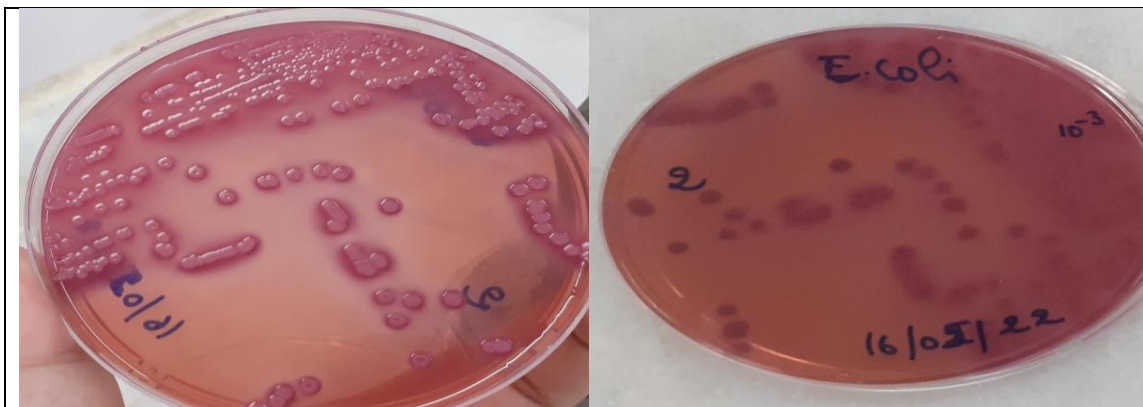


Figure 11 : Aspect macroscopique d'*Escherichia* sur milieu Mac conkey, isolé à partir de la boue activée.

c) Observation macroscopique de *Citrobactere* :

Sur milieu MacConkey , nous avons enregistré la présence de colonie lisses (Fig12) , légèrement convexes humides , translucides ou opaques et grises avec une surface brillante , ce qui montre la présence des *citrobactères* , ce résultat a été citer dans les travaux de James et al en 2011.

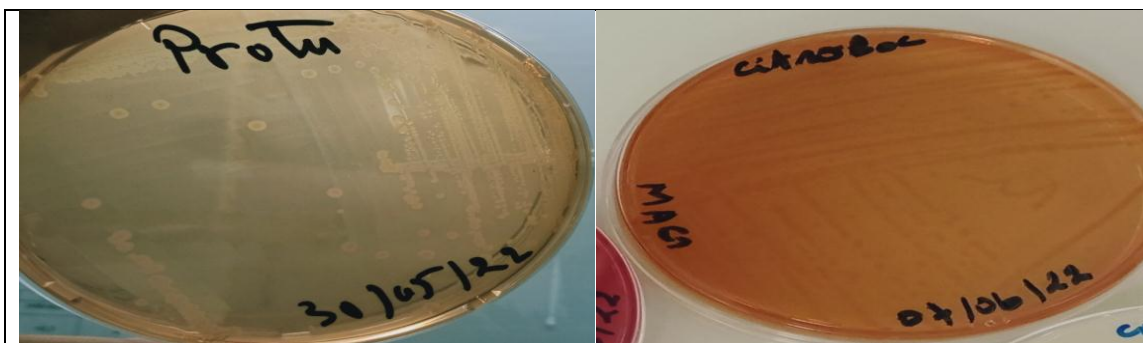


Figure 12 : Aspect macroscopique de *citrobactaire* sur milieu Mac conkey, isolé à partir de la boue activée.

Observation macroscopique de Bacillus

Sur milieu de culture Agar d'amidon, nous avons noté la présence des colonies leurs couleur virent du blanc à crème, avec une forme circulaire à irrégulier et des textures lisses (Fig 13), James et al, (2011) a enregistré des résultats similaires.

Résultats et interprétation

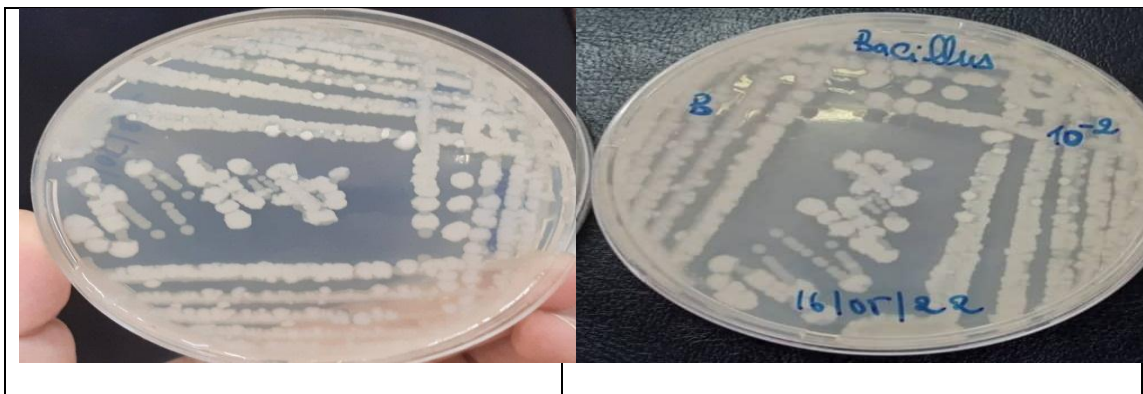


Figure 13 : Aspect macroscopique de *Bacillus* sur milieu amidon, isolé à partir de la boue activée.

III.2.2.1.2. Observation microscopique

III.2.2.1.2.1. Coloration de Gram

Après la caractérisation macroscopique, les genres bactériens obtenus ont subi une coloration de gram pour confirmer leur identités, les frottis des différents genres bactériens ont été observé sous microscope optique et a émersion au (grossissement X100).

L'observation des frottis du genre *Pseudomonas*(**Fig14A,14B, 14C**), *Escherichia*(**Fig 15**), et *Citrobacteres*(**Fig16**) a montré la présence des cellules rose, ce qui confirme que nos s souches sont des bacilles gram négatifs , **Bell-Perkins et Lynch, (2002)** et **James et al . (2011)** ont souligné le même résultat que le nôtre. par contre ce test a montré que les souches de *Bacillus* sont des gram positifs(**fig 17**).

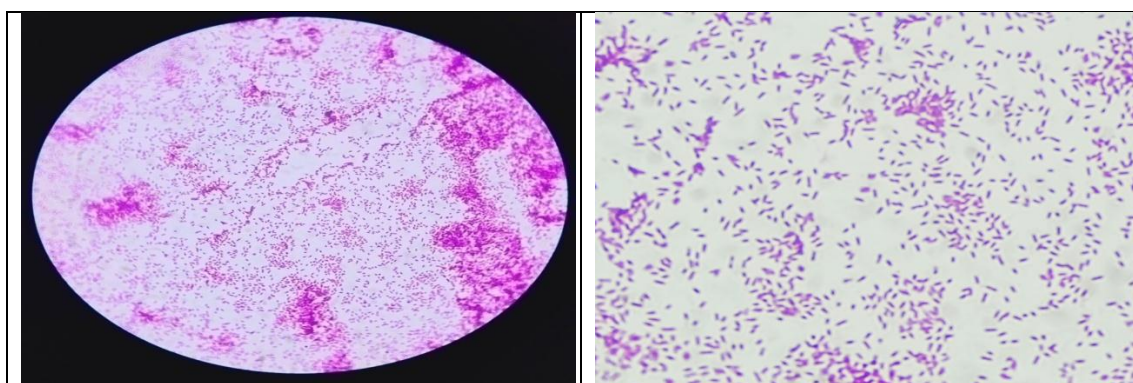


Figure 14A: Aspect microscopique de *Pseudomonas* (G : X100)

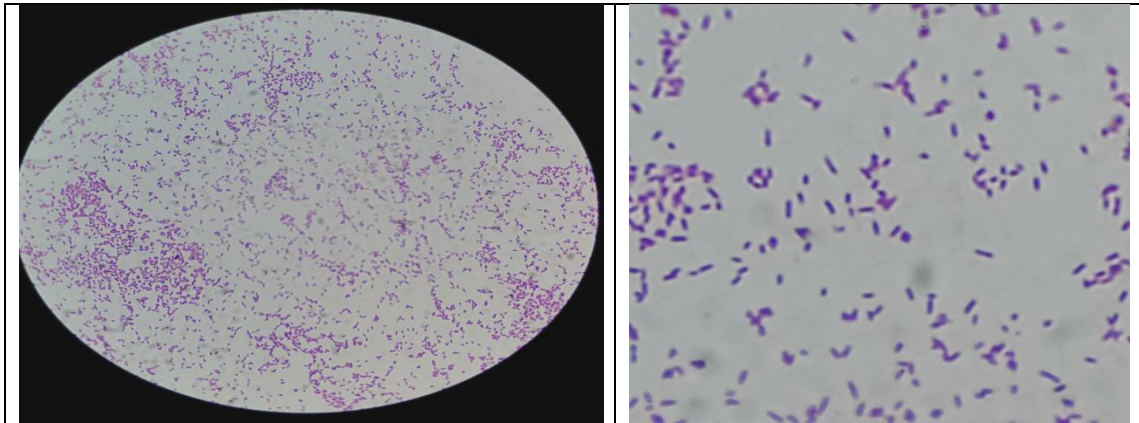


Figure 14B: Aspect microscopique de *Pseudomonas* (G : X100)

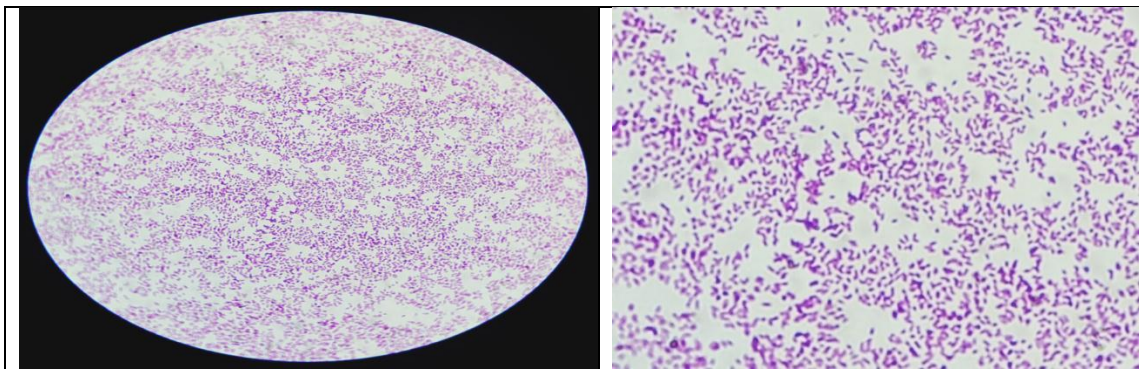


Figure 14C: Aspect microscopique de *Pseudomonas* (G : X100)

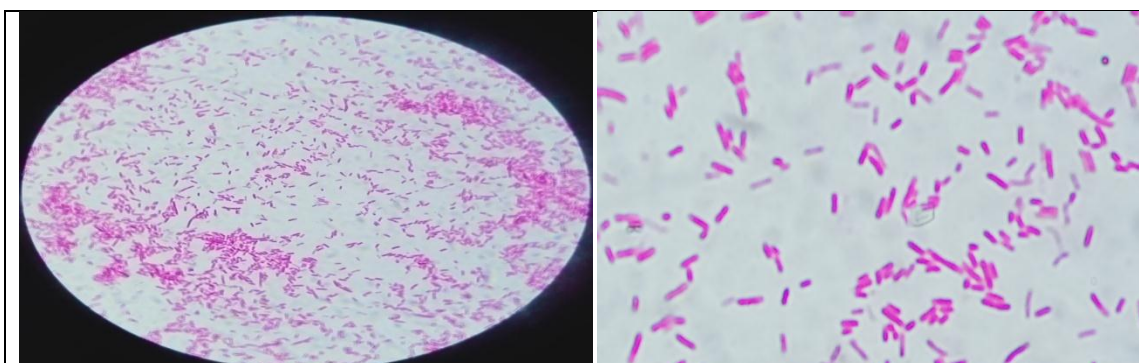


Figure 15: Aspect microscopique d'*Escherichia* (G : X100)

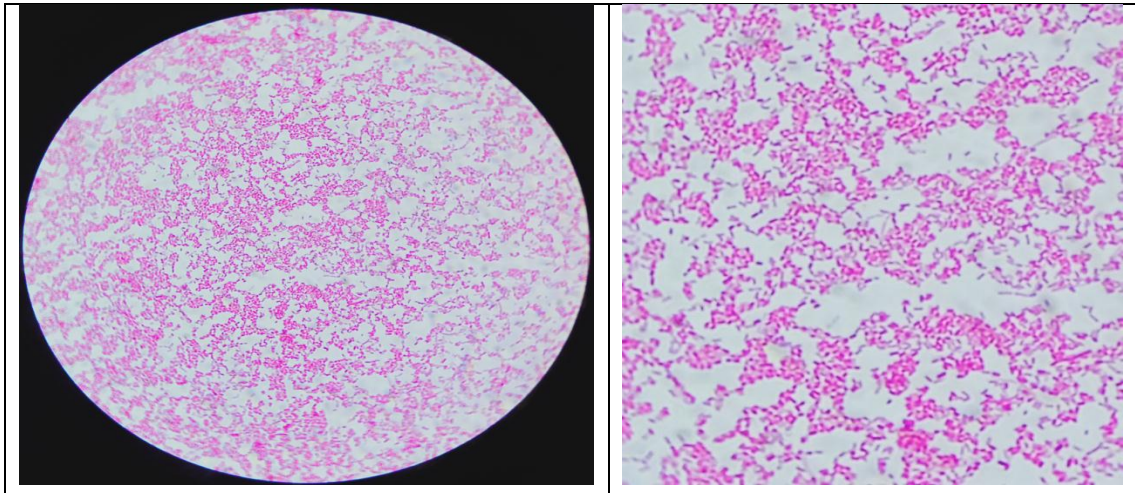


Figure 16: Aspect microscopique de *cétrobactaire* (G : X100)

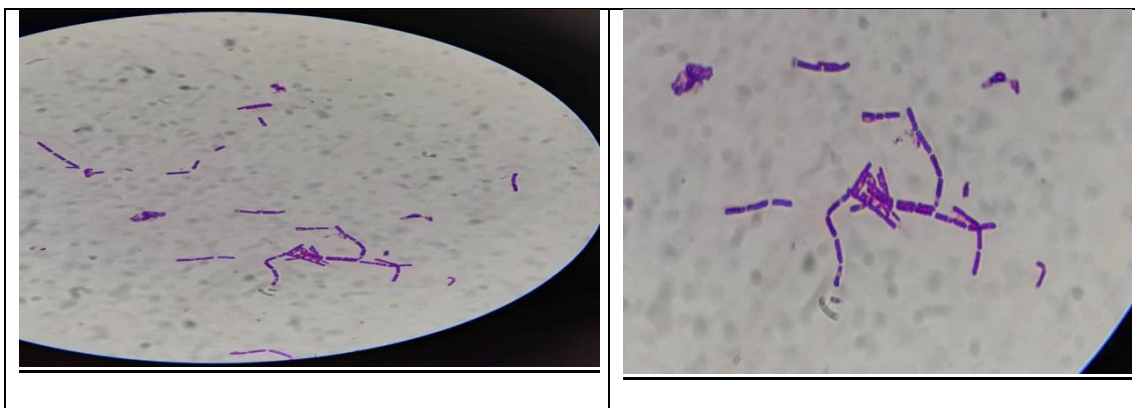


Figure 17: Aspect microscopique de *Bacillus* (G : X100)

III.2.2.1.2 .Caractérisation biochimique

III.2.2.1.2 .1. Test de lugol :

Nous n'avons enregistré aucune couleur autour des cultures des *Bacillus* sur milieu agard'amidon, ce qui indique que cette masse microbienne a hydrolysée l'amidon par l'enzyme l' α -amylase, ce qui confirme que ce sont des *Bacillus* (**fig 18**).

Résultats et interprétation



Figure 18: Test de lugol

III.2.2.1.2.2. Teste oxydase

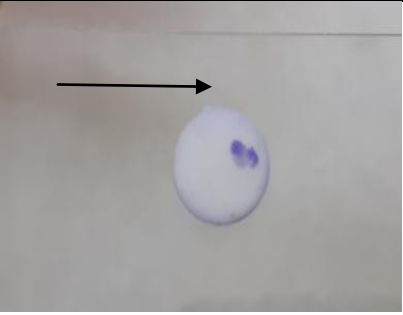
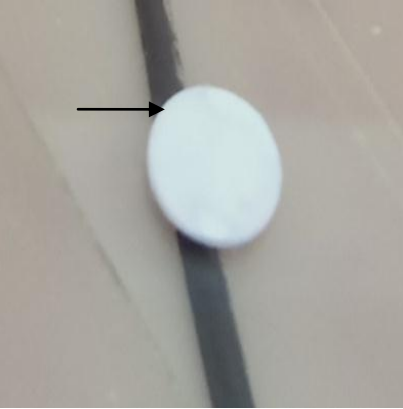
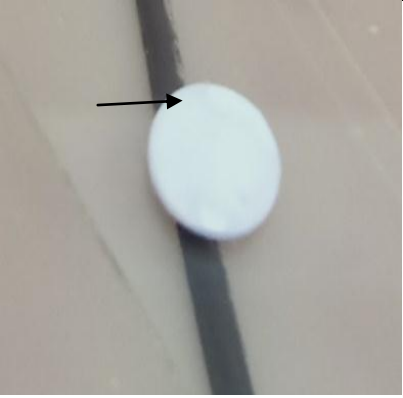
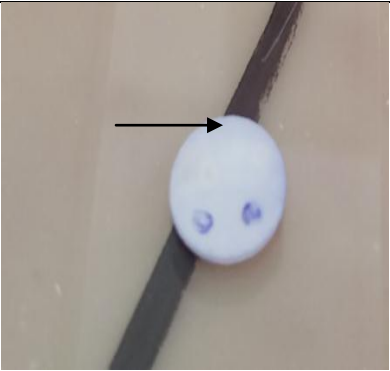
Le **test de l'oxydase** est un test de détection de l'enzyme **cytochrome oxydase**, il présente donc un intérêt taxonomique au profit des bactéries à Gram négative. Les résultats de ce test obtenus dans notre étude montre que les *Pseudomonas* et les *Bacillus* sont des Gram positifs car nous avons noté l'apparition de la couleur violette chez ces dernières, par contre nous n'avons pas enregistré la couleur violette chez *Escherichia coli* et *Cétribactère* ce qui indique que ce sont des Gram négatif.



Figure 19 : Test oxydase (Témoin)

Résultats et interprétation

Tableau 7 : Les résultats de test oxydase

Test d'oxydase	Test	Résultat
<i>Pseudomonas spp</i>		+
<i>Escherichia coli</i>		-
<i>Cétribactere</i>		-
<i>Bacillus</i>		+

Résultats et interprétation

III.2.2.1.2.3. Galerie API

L'identification phénotypique par la galerie API 20E nous a permis de rapprocher deux souches de *Pseudomonas* à savoir (*Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens*), une souche de *Escherichia coli* et une souche *Citrobacterfreundii* (Tableau 8) à travers le logiciel API, la lecture de ces réactions a été faite selon le profil numérique à l'aide du catalogue analytique API 20E.

Tableau 8: résultats de galerie API

Test biochimique	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Citobacterfreundii</i>
Orhto-Nitro-Phényl-Galctoside	-	-	+	-
Arginine	+	+	-	+
Lysine	-	-	+	-
Omithine	-	-	-	-
Citrate	+	-	-	+
Thiosulfate de sodium	-	-	-	-
Urée -	-	-	-	-
Tryptophane	-	-	-	-
Tryptophane	-	-	+	-
Pyruvate de sodium	-	-	-	-
Gélatine	+	+	-	-
Glucose	+	+	+	+
D-mannitol	-	-	-	+
Inositol	-	-	-	+
Sorbitol	-	-	+	+
Rhamnose	-	-	+	+
Saccharose	-	-	-	+
Melibiose -	-	-	+	+
Amygdalin	-	-	-	-
Arabinose	-	-	+	+
Oxydase	+	+	-	-

Résultat positif (+), Résultat négative (-)

Résultats et interprétation

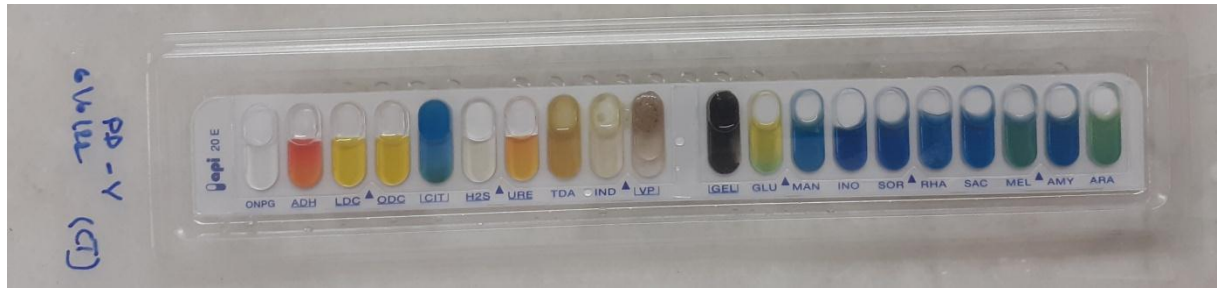


Figure 20: Api 20E de *Pseudomonas fluorescens*

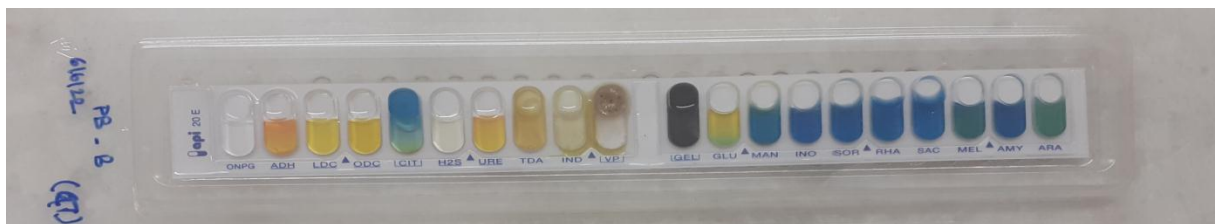


Figure 21: Api 20E de *Pseudomonas aeruginosa*



Figure 22: Api 20E d'*Escherichia coli*



Figure 23: Api 20E de *Citobacter freundii*

Résultats et interprétation

Le genre *Pseudomonas* est caractérisé par un métabolisme oxydatif et non fermentatif, utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons, et même quelques souches utilisent la dénitrification (les nitrates sont parfois utilisés comme accepteurs d'électrons ce qui permet une croissance en anaérobiose).

L'arginine représente une source d'azote intéressant dans les milieux riches en matière organique. La complexité du catabolisme de l'arginine révèle l'intérêt de ce substrat pour les micro-organismes (Cunin et al., 1986). La dégradation de l'arginine est une voie caractéristique des *Pseudomonas aeruginosa*, *Fluorescents* et *Citobacterelle* fonctionne seulement en absence de l'oxygène et sous conditions dénitrifiâtes.

III.2.2.1.2. Caractéristiques moléculaire

III.2.2.1.2.1. L'identification par le "MALDI TOF "

Afin de confirmer l'identité des souches étudiées dans notre étude nous sommes orientés vers l'identification par l'utilisation d'une technique récente qui est le MALDI TOF.

Le spectre du micro-organisme étudié est comparé aux spectres de référence d'une base de données selon un algorithme statistique, ce qui a permis l'identification de : deux espèces de *Pseudomonas* à savoir : *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas aeruginosa* , une seule espèce d'*Escherichia coli* , une seule espèce de *Citrobacterfreundii* et une seule espèce de *Bacillus thuringiensis* , Le résultat obtenu est accompagné d'un score de confiance de 100% qui nous permet d'apprécier la fiabilité de l'identification des bactéries étudiées (Fig 24).

Dieckmann et al. (2005) et Degand et al. (2008) rapportent que cette technique est efficace pour l'identification des *Pseudomonas*, ce qui permet de confirmer ou infirmer les résultats obtenus par les méthodes classiques. Ainsi, elle permet de donner des résultats fiables dans un délai plus court que les méthodes habituelles et de réduire la quantité de l'échantillon à analyser.

Le comparative entre les deux techniques d'identification utilisées (API 20NE et MALDI-TOF confirme la présence des souches suivante

Résultats et interprétation

MALDI Biotyper Classification Results



Project Info:

Project Name: 220608-1315-100
 Project Description: Analyse du 08.06.2022 Blida
 Project Owner: Admin@FLEX-PC
 Project Creation Date/Time: 2022-06-08T13:20:06.362
 Project Analyte Count: 10
 Project Type: Development
 QC: not present
 QC Position:

Result Overview

Organism names which are in blue and underlined are linked to the matching hint table below.

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
<u>F1</u> (++) (A)	E.COLI A GN	<u>Escherichia coli</u>	2.08	<u>Escherichia coli</u>	2.028
<u>F2</u> (++) (A)	E.COLI 2 GN	<u>Escherichia coli</u>	2.221	<u>Escherichia coli</u>	2.204
<u>F3</u> (+++)(B)	CITROBAC GN	<u>Citrobacter freundii</u>	2.36	<u>Citrobacter freundii</u>	2.297
<u>F4</u> (++) (A)	E.COLI NK GN	<u>Escherichia coli</u>	2.252	<u>Escherichia coli</u>	2.003
<u>F5</u> (+++)(A)	PB GN	Pseudomonas aeruginosa	2.352	Pseudomonas aeruginosa	2.092
<u>F6</u> (+++)(A)	PD GN	Pseudomonas aeruginosa	2.336	Pseudomonas aeruginosa	2.178
<u>F7</u> (+) (B)	PF CETRIMIDE	<u>Pseudomonas mosselii</u>	1.825	not reliable identification	1.476
<u>F8</u>					

1/17

(+) (B)	BB GN	<u>Bacillus thuringiensis</u>	1.801	not reliable identification	1.586
<u>F9</u> (+) (B)	BC2 GN	<u>Aeromonas hydrophila</u>	1.895	<u>Aeromonas caviae</u>	1.892
<u>F10</u> (++) (B)	BC4 GN	<u>Citrobacter freundii</u>	2.227	<u>Citrobacter freundii</u>	2.194

Figure 24 : Résultats de l'identification des isolats par MALDI -TOF

Les espèces bactérienne à travers une caractéristiques morphologiques, culturales, microscopique, biochimique et moléculaire sont connue par leurs rôle dans la bio remédiation, et dans la littérature ces espèces sont citées comme des microorganismes à pouvoir dépolluant, ce qui nous a motivé de conserver ces espèces pour des futurs travaux .

Conclusion

Conclusion

Notre étude à portée d'une part sur les analyses physico-chimiques des eaux usées (brutes et traitée) de la station d'épuration de Béni Mered Blida, et d'autre part sur les caractérisations morphologiques culturales, biochimiques et moléculaires de quelques bactéries dépolluantes des eaux usées isolées à partir des boues activées.

Les résultats obtenus dans notre étude concernant les caractères physico-chimiques des eaux usées à l'état brute (à l'entrée de la station) et épuré (à la sortie de la station) semblent très satisfaisants, car ils répondent aux normes **JORA, (2006)**, la température et le pH ne varient pratiquement pas, une diminution remarquable de la conductivité électrique a été soulevée, les paramètres relatifs à la pollution (DBO5, DCO, NH₄⁺, PT, PO₄⁻³ et NT) ont diminué de façon importante entre les eaux usées brutes (où on enregistre les valeurs les plus élevées) et les eaux usées traitées (où on enregistre les valeurs les plus faibles), par contre les teneurs des nitrites et nitrates ont augmenté à cause du processus de nitrification qui transforme l'azote ammoniacal (d'où sa diminution) en nitrates (d'où leur augmentation), ce qui démontre un dysfonctionnement de traitement en terme d'élimination des nitrates. Les phosphates de l'eau usée sont utilisés, durant le traitement biologique, dans la métabolisation bactérienne, ce qui provoque la diminution des teneurs en phosphates de l'entrée à la sortie de la station d'épuration. Pour l'analyse physique des boues activées la quantité de MES dans les deux bassins d'aération ne dépassent pas le seuil autorisé, ce qui indique le bon fonctionnement de la STEP.

Nous avons obtenu un cortège bactérien connu par son pouvoir dépolluant, la caractérisation microbiologique a montré la présence de quatre genres bactériens et six espèces à savoir : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* et *Bacillus thuringiensis*, dans les boues activées de la STEP de Benimered (Blida), ces espèces jouent un rôle important dans la nitrification et la dénitrification ainsi que la solubilisation de phosphate ce qui influence l'épuration des eaux par les boues activées.

Le traitement biologique par boues activées présente une efficacité très importante car les résultats de nos analyses ont largement confirmé le bon fonctionnement de la station.

Conclusion

Comme perspective, il serait souhaitable de :

- ✓ Créer un bassin d'anoxie où se déroule la réaction de dénitrification pour permettre l'élimination des nitrates et nitrites.
- ✓ Effectuer un traitement tertiaire permettant l'élimination des composés restant après le traitement secondaires.
- ✓ Compléter les analyses physicochimiques des effluents par un suivi de la qualité microbiologique au niveau de la station d'épuration de Béni Mered Blida.
- ✓ L'isolement et l'identification des souches doivent être conservées
- ✓ La nécessité d'un séquençage pour confirmer leurs identités
- ✓ La lyophilisation de ces espèces est recommandée pour contrôler leurs viabilités.
- ✓ La formulation de ces espèces bactériennes doivent être accompagnées par des tests in situ

Références

Bibliographique

Références Bibliographique

Références Bibliographique

A

Aubry, G. (2003). Enlèvement de l'azote des eaux usées par procédé à culture fixée immergée. Mémoire du grade maître des sciences. Québec. 161p.

B

Badis, A., LAOUABDIA-SELLAMI N., GUETRANI D. KIHAL M. Et OUZROUT R. 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « arabia et kabyle+ Sciences et technologie 23,30-37.

Bassompierre, C. (2007) . Procédé à boues activées pour le traitement d'effluents papetiers : de la conception d'un pilote à la validation de modèles. Thèse Doctorat Institut National Polytechnique De Grenoble, 230p.

Baumont, S., Camard, J.P. et Lefranc, A. (2009). Réutilisation des eaux usées épurées : risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. École nationale supérieure agronomique de Toulouse (ENSAT). 222p.

Baumont, S., Jean, P., Lefranc, A., Franconi, A. (2004). Réutilisation des eaux usées épurées : risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. Institut d'aménagement et d'urbanisme de la région Ile-de-France. 169 P.

Belaid, N. (2010). Evaluation des impacts de l'irrigation par les eaux usées traitées sur les plantes et les sols du périmètre irrigué d'El Hajeb-Sfax: salinisation, accumulation et phytoabsorption des éléments métalliques. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 236p.

Bell-Perkins, L. J. et Lynch, J.M. (2002). Rhizosphere microbiology. In G. Bitton (ed.). Encyclopedia of environmental microbiology. A Wiley-Interscience Publication, Canada. p. **Berland, J. M., Boutin, C., Molle, P. and Cooper, P., 2001** Procédés extensifs d'épuration des eaux usées. -Office des publications des communautés européennes, Luxembourg.

Références Bibliographique

Benoussaid, N.(2019). Etude de quelques caractères phénotypiques et génotypiques du métabolisme secondaire lié au biocontrôle et la phytostimulation chez les *Pseudomonas* spp fluorescents. , Microbiologie, Université Saad Dahlab Blida ; 242p.

Bliefert, C., Perraud, R. (2001). Chimie de l'environnement : Air, Eau, Sols, Déchets. Edition de Boeck.

Bloemberg, G.V. andlugtenberg, B.j.j. (2001).Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant biol.* 4pp.343-350.

Bossis, E. (1995). Les *Pseudomonas* fluorescents de la rhizosphère : Etude taxonomique et effet sur la croissance de la tomate et du maïs, de la germination à la levée. Thèse doctorat. Université de Nante. France. 143p.

Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. and Gardan, L. (2000).The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie* .20: 51-63.

Botton, B., Breton, A., Fever, M., Gauthier, S., Guryplarpent,P., Reymondj, P., Sanglier,J., Vayssier, Y. et Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisible importance industrielle .Ed . MASSON 2 ème édition, Paris.

Bounoud, R. (2014). Contribution à l'étude physico-chimique et bactériologique des eaux de la station d'épuration du CHENOUA (W.TIPAZA) et possibilité de réutilisation après traitement. Mémoire de master. Université de Blida 1. 38p.

Boussena,S.(2020). Manuel des travaux pratiques de bactériologie .Institut des sciences vétérinaires département de production animales .Université de Constantine 1. 20.40p.

C

Campos, C. (2008). New perspectives on microbiological water control for wastewater reuse. *Desalination*, 218, 34–42.

Cardot, C. (1999). Les traitements de l'eau – Procédés physico-chimiques et biologiques.Paris : Ellipses. 247 p.

Références Bibliographique

Cunin, R., Glansdorff, N., Pierarad, A. and Stalom, V. (1986). Biosynthesis and metabolism of arginine in bacteria. *Microbiology. Revue* 50:314-350.

D

Debieche, T. H. (2002). Évolution de la qualité des eaux (salinité, azote et métaux lourds) sous l'effet de la pollution saline. Agricole et industrielle. Thèse de doctorat. Université de Constantine. 235p.

Degand, N., Carbonnelle, E., Dauphin, B., Beretti, J.L., Le Bourgeois, M., Sermet-Gaudelus, I., Segonds, C., Berche, P., Nassif, X. and Ferroni, A (2008).Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of nonfermenting gram-negative bacilli isolated from cystic fibrosis patients. *J. Clin. Microbiol.* 46: 3361–3367.

Dieckmann, R., Graeber, I., Kaesler, I., Szewzyk, U. and von Dohren, H (2005).Rapid screening and dereplication of bacterial isolates from marine sponges of the sula ridge by intact-cell-MALDI-TOFmass spectrometry (ICM- MS). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67: 539–548.

Driss, B., Youssef, E., Ghizlane, Z., Okada, T., Lahcen, O., Brahim, J., Abdelatif, H., Hammou, A., Ouafae, B., Khadija, E., and Hamid, B. (2009): Caractérisation physico- chimique des eaux usées d'abattoir en vue de la mise en œuvre d'un traitement adéquat : cas de Kénitra au Maroc. *Afrique SCIENCE.*, 148, 199-216.

E

Eddabra, R. (2011). Evaluation de la contamination bactériologique des eaux usées des stations d'épuration des Grands Agadir : Isolement, caractérisation moléculaire et antibiorésistance des espèces de genre *Vibrio*. Stasbourg.

Edeline, F. (1988). L'épuration biologique des eaux résiduaires. Théorie et technologie. 3^{em} éd. Cebedoc. Liège. Tee ET Dot-Lavoisier. Paris.

EL Rhazi, O., Habib, R. (2007). L'utilisation des eaux usées épurées en irrigation. Université cadi ayyad. Faculté des sciences – Semlalia. Maroc. P23.

F

Références Bibliographique

FERTAS.,LAOUISSI.,ZOUAIMIA.(2015) . Etude microbiologique des boues des eaux usées de la ville de Guelma.

G

Gamble, T. N., Betlach, M. R. and Tiedje, J. M. (1977). Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Applied and Environmental Microbiology* 33, 926-939.

Gaujous, D. (1995). La pollution des milieux aquatiques. aide-mémoire. Ed. Techniques et documentations. Lavoisier. Paris. 220p.

Gennaccaro, A.L., McLaughlin, M.R., Quintero-Betancourt, W., Huffman, D.E. and Rose, J.B. (2003).Infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in final reclaimed effluent. *Application. Environment. Microbiology.* 69, 4983–4984.

Grosclaude, G. (1999). L'eau : usage et polluant. Tome II. 4eme Edition: INRA. Paris. 11p.

I

Isabelle, B., Véronique, C., Michel, C., Jérôme, C., Christine, D., Hubert, D., Philippe, D., Brigitte, F., Elise, L., Roland, R., Olivier, S., Philippe. S. et Roland, W. (2013). Station d'épuration des eaux usées prévention des risques biologique.

Itim, M., El bar, Z. (2013).Caractérisation phénotypique de quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et la mise en évidence de leur activité antagoniste vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. Mémoire de master. Université de Blida 1. 49p.

J

JORA. (2006). journal officiel de la république algérienne. Décret Exécutif n° 06-141 du 20 Rabie El Aouel 1427 correspondant au 19 Avril 2006. Section 1. Article 3.

K

Références Bibliographique

Khaldi, H. (2017). Etude de possibilité d'épuration des eaux usées par un mélange boues- micro-algues. Cas de la station d'épuration de Tiaret. Thèse de doctorat, Université Ibn Kheldoun de Tiaret. 151p.

Koren, H., Bisesi, M. (1996). Handbook of environmental health and safety. Principles and practices. Volume II. 3rd Edition. CRC Press. Boca Raton. Fl. Stats-Unis

L

LADJEL., ABBOU. (2016). Perspectives de valorisation agricole et énergétique des boues issues de STEP en Algérie.p58.

Lattor, X. (1997). Effet de la plante et du sol sur la biodiversité des populations telluriques de Pseudomonas spp. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne. 70p.

Lazarova, V., Gaid, A., Rodriguez-Gonzalez, J., AldayAnsola, J. (2003). L'intérêt de la réutilisation des eaux usées : analyses d'exemples mondiaux. TSM. Techniques science méthodes. Génieurbaingénie rural 64-85.

M

Metaclf, W., Eddy, C. (2003). Wastewaterengineering.4th.McGraw-Hill Inc, New york.

O

ONA. (2011). Descriptif de fonctionnement et d'exploitation de la station d'épuration de Guelma. Ministère des Ressources en Eaux. Office National de l'Assainissement. Algérie. 64p.

ONA. (2015). Descriptif de fonctionnement et d'exploitation de la station d'épuration de Béni madre. Ministère des Ressources en Eaux. Office National de l'Assainissement. Algérie.

Ouali, M.S. (2001). Cours de procédés unitaires biologiques et traitement des eaux. - Office des publications universitaires,Algérie.

P

Références Bibliographique

Prescott, M.L., Harley P.J., Klein A. D. (2003) :Microbiologie. 2ème édition française . De Boeck.

Pronost, J., Pronost, R., Deplat, L., Malrieu, J. and Berland, J. (2002). Stations d'épuration : dispositions constructives pour améliorer leur fonctionnement et faciliter leur exploitation. - Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, et des affaires rurales (FNDAE n ° 22 bis), document technique, France.

R

Raszka, A., Chorvatova, M., Wanner, J. (2006). Le rôle et l'importance des polymères extracellulaires dans les boues activées. Partie I: revue de la littérature. Acta HydrochimHydrobiol 34: 411–424.

Resjeck, F. (2002). Analyse des eaux, aspects réglementaires et techniques. Edition: SCERENE. p. 166-198.

Rodier, J. (2005). L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8^{ème}Edition.Dunod. Paris.

Rodier, J., Bazin, C., Broutin, J.P., Chambon, P., Champsaur, H. et Rodi, L. (2005).L'analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8eme édition. Ed. Dunod, Paris. 1383p.

Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., Brunet, R. (2009). L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 9eme Édition. 1383 P.

S

Salghi, R. (2001). Différentes filières de traitement des eaux. Université Ibn Zohr Rabat. p22.

Salghi, R. (2010). Différents filières de traitement des eaux université Ibn Zohr Ecole Nationale des Sciences Appliquées d'Agadir. 220p.

Salvado, H., Gracia, M.P., Amigo, J.M. (1995). Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. Water Res. 29. 1041-1050.

Références Bibliographique

Smolders, G. J. F., Van der Meij, J., Van Loosdrecht, M. C. M., and Heijnen, J. J. (1994). "Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: Stoichiometry and pH influence." *Biotechnol. Bioeng.*, 436, 461–470.

Stewart, M. (1988). Computer image processing of electron micrographs of biological structures with helical symmetry. *J. Electron. Microsc. Tech.* 9(4):325-358.

Strous, M., Kuenen, J. G., Fuerst, J. A., Wagner, M. and Jetten, M. S. M. (2002). The anammox case A new experimental manifesto for microbiological ecophysiology. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81, 693–702.

Suschka, J., Ferreira, E. (1986). Activated sludge respirometric measurements. *Water Research*. 20. 2. 137-144.

T

Toze, S. (2006). Reuse of effluent water benefits and risks. *Agricultural Water Management* 80, 147–159.

U

Urios, L. (2005). *Technique D'épuration des eaux usées. Technique et documentation.* Paris.

Y

Yan, S., Bala, S., Surampalli, R.Y., Narasiah, S. and Tyagi, R.D. (2007). Isolation, Characterization, and Identification of Bacteria from Activated Sludge and Soluble Microbial Products in Wastewater Treatment Systems. *Pract. Period. Hazard. Toxic Radioact. Waste Manage.* 240-258.

Annexe

Annexe 1

❖ Les milieux de cultures :(Composants g/ litre) :

Milieu MacConkey Agar :

Suspendre 51,5 g dans 1 litre d'eau distillée Chauffer jusqu'à complète dissolution.

Stériliser en autoclave à 120°C pendant 20 minutes



Milieu Gélose à l'Amidon :

Composition : peptone ,1% d'amidon de riz ou

de pomme de terre, agar, eau distillée.



Milieu Gélose au cétrimide :

Suspendre 45,2g dans 1litre d'eau distillée plus 5ml de glycérol Chauffer jusqu'à complète dissolution.

Stériliser en autoclave à 120°C pendant 20 minutes



Milieu TSA

Suspendre les composants, poudre déshydratée, dans l'eau (40 grammes dans 1000 ml d'eau distillée).

Le milieu est bouilli pendant quelques secondes jusqu'à dissolution complète des ingrédients.

Mélangez correctement et enfin stérilisez par autoclavage à 121 ° C pendant 15 minutes. Refroidir à 45-50°C et répartir de manière aseptique dans des boîtes de Pétri stériles. Datez le milieu et attribuez-lui un numéro de lot.



Annexe 2

La dilution décimale consiste à diminuer la densité de l'eau en microorganismes, d'abord à 10^{-1} Puis à 10^{-2} et ainsi de suite jusqu'à obtenir d'une faible concentration microbienne de l'échantillon mère. Avant d'entamer le travail, il est important de créer une zone stérile, par la flamme du Bec Bunsen, sur une paillasse soigneusement nettoyée. La préparation des dilutions consiste à :

- Homogénéiser l'échantillon mère par agitation du flacon de prélèvement. Procéder tout d'abord à la numérotation des tubes en les étiquetant respectivement de 10^{-1} à 10^{-5} cellules/ml pour les différentes dilutions.
- Prélever à l'aide d'une micropipette, 1ml d'échantillon mère, puis l'ajouter à 9ml d'eau physiologique stérile dans un tube à essai, permettant ainsi d'obtenir une suspension microbienne diluée à 10^{-1} par rapport à la suspension mère
- Prélever 1 ml de la suspension 10^{-1} agitée, à l'avance à l'aide d'un vortex, avec une micropipette et diluer dans un second tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, pour arriver à une dilution de 10^{-2} et ainsi de suite, à chaque dilution, pour arriver à diminuer la charge microbienne de l'échantillon mère à l'exponentiel de 10^{-5}

Technique de coloration de Gram

- Préparer et fixer un frottis bactérien à la chaleur du bec Bunsen.
- Recouvrir au violet de Gentiane (cristal violet) pendant 1min. Eliminer l'excès par l'eau courante;
- Ajouter du Lugol (mordant) et appliquer pendant 1min, jeter l'excès par l'eau courante;
- Traiter à l'alcool 95° pendant quelques secondes (10-15 secondes), puis rinçage à l'eau;
- Recolorer à la Fus chine (safranine) pendant 60 à 75 secondes, rinçage à l'eau puis séchage.

Les bactéries Gram positif se colorent en violet alors que les Gram négatif se colorent en rose. .(BOUSSENA, 2020)

• Technique de La galerie Api 20 E :

1. Préparation d'une suspension bactérienne :

- Mettre une ou deux colonies de la souche pure dans 5 ml d'eau physiologique ou eau distillée stérile.

2. Inoculation de la suspension bactérienne dans la galerie API 20E :

- Dans la zone stérile, à l'aide d'une pipette ayant servi au prélèvement, prendre aseptiquement un volume de la suspension bactérienne préparée, puis l'introduire dans chaque tube, en appuyant à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation des bulles :

a. Remplir les tubes et les cupules des tests dont le sigle est encadré

b. Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.

c. Créer une anaérobiose dans les tests dont le sigle est souligné : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

- Remplir les creux du support de la galerie pour former une chambre humide, puis la plaquette inoculée est posée dans le support et le couvercle par-dessus.

- Incubation de l'ensemble à une température adaptée (37°C) pendant 24 à 48h.

• **Observations et lecture :**

Dans un tableau API 20 E, noter tous les résultats positifs. Si le glucose est positif et/ou 3 tests ou plus sont positifs : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs.

- Test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes.

- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA.

- Test IND : ajouter une goutte de réactif de Kovacs. Attendre 2 minutes.





- Test NO₂-/N₂ : ajouter une goutte de NIT1 et NIT2 et Zinc éventuellement.

	ONPG		GLU		ARA		LDC		ODC		GIT		H2S		URE		TDA		IND		OX		NO2		P(taxon / profil)	P(taxo n° / profil)	P(plus typique)	S	taxons	nombre d'incompatibilités
profil	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	P	n°	typique	1.00E-03			
Citrobacter koseri/amalonaticus	97	100	95	0	86	87	0	2	0	92	0	99	1,43E+15	0,0%	6,15E+23	-1,88	-												1	
Citrobacter braaki	51	100	99	0	99	75	81	1	0	1	0	99	6,84E+14	0,0%	2,95E+23	-1,88	-												1	
Citrobacter farmen	98	100	99	0	100	0	0	0	0	100	0	99	2,00E+10	0,0%	9,60E+23	-3,56	-												4	
Citrobacter freundii	90	100	94	0	0	75	65	1	0	1	0	98	3,09E+17	0,0%	3,96E+23	-1,04	-												1	
Edwardsiella tarda	0	99	1	99	100	1	94	0	0	99	0	99	5,88E+10	0,0%	8,85E+23	-3,39	-												2	
Escherichia coli 1	76	95	80	98	56	1	3	4	0	70	0	99	1,12E+14	0,0%	2,03E+23	-2,09	-												1	
Escherichia coli 2	74	99	90	0	32	1	0	2	0	50	0	98	1,72E+16	0,0%	2,13E+23	-1,36	-												1	
Escherichia vulnens	100	99	99	15	0	0	0	4	0	0	0	99	8,08E+13	0,0%	7,92E+23	-2,33	-												3	
Enterobacter aerogenes	99	99	99	98	99	84	0	2	0	0	0	99	1,63E+12	0,0%	7,67E+23	-2,89	-												1	
Enterobacter amnigenus	99	98	98	0	95	56	0	0	0	0	0	99	5,49E+14	0,0%	5,01E+23	-1,99	-												1	
Enterobacter spp/Escherichia coli/Shigella sonnei	100	100	100	0	100	0	0	0	0	0	0	99	1,00E+12	0,0%	9,90E+23	-3,00	-												5	
Enterobacter cloacae	99	99	99	1	93	94	0	1	0	0	0	99	6,38E+14	0,0%	8,23E+23	-2,04	-												1	
Hafnia alvei	60	99	75	100	98	40	0	5	0	0	0	99	7,52E+14	0,0%	2,46E+23	-1,84	-												2	
Klebsiella oxytoca	99	99	96	78	2	90	0	40	0	100	0	99	4,61E+13	0,0%	3,84E+23	-2,31	-												2	
Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae	99	99	99	72	0	90	0	60	0	0	0	99	9,98E+14	0,0%	3,73E+23	-1,86	-												1	
Morganella morganii	2	97	1	5	96	2	1	99	91	97	0	88	2,29E+13	0,0%	6,40E+23	-2,48	-												1	
Pantoea spp 1	100	100	80	0	0	28	0	0	1	0	0	85	8,32E+17	0,0%	4,85E+23	-2,09	-												2	
Pantoea spp 2	96	100	99	0	0	68	0	0	0	100	0	85	4,08E+15	0,0%	5,49E+23	-1,71	-												1	
Proteus mirabilis	1	96	1	1	98	57	83	99	98	2	0	93	2,48E+14	0,0%	3,82E+23	-2,06	-												3	
Proteus penneri	0	100	0	0	1	15	100	100	0	0	0	99	8,50E+13	0,0%	8,33E+23	-2,33	-												1	
Proteus vulgaris	0	97	1	0	1	31	83	98	99	94	0	99	6,01E+13	0,0%	4,92E+23	-2,30	-												1	
Providencia rettgeri	1	99	1	0	0	70	0	94	99	88	0	98	9,78E+15	0,0%	5,45E+23	-1,58	-												2	
Providencia stuartii/alkalicifaciens	1	99	2	0	0	91	0	15	100	98	0	99	1,49E+16	0,0%	7,21E+23	-1,56	-												1	
Salmonella arizonae	97	100	99	96	97	50	96	0	0	1	0	99	7,13E+11	0,0%	4,21E+23	-2,92	-												1	
Salmonella choleraesuis	0	99	0	97	97	4	70	0	0	0	0	99	1,07E+15	0,0%	6,20E+23	-1,92	-												4	
Salmonella gallinarum	0	100	100	100	1	0	33	0	0	0	0	99	6,63E+13	0,0%	6,57E+23	-2,33	-												3	
Salmonella paratyphi A	0	100	99	0	100	0	5	0	0	0	0	99	9,50E+13	0,0%	9,31E+23	-2,33	-												2	
Salmonella pullorum	0	100	68	75	99	0	85	0	0	0	0	99	1,20E+14	0,0%	4,25E+23	-2,18	-												1	
Salmonella spp	4	100	94	92	95	74	85	0	0	3	0	99	2,48E+15	0,0%	4,76E+23	-1,76	-												2	
Salmonella typhi	0	99	0	98	0	0	8	0	0	0	0	99	1,82E+16	0,0%	8,84E+23	-1,56	-												1	
Serratia liquefaciens	94	100	98	70	99	85	0	5	0	0	0	99	2,91E+14	0,0%	5,10E+23	-2,08	-												1	
Serratia marcescens	94	100	19	98	95	97	0	28	0	1	0	95	1,68E+16	0,0%	4,66E+23	-1,48	-												1	
Serratia odorifera	95	99	95	97	43	87	1	0	0	99	0	99	3,65E+13	0,0%	4,17E+23	-2,35	-												1	
Shigella spp	26	99	40	0	0	0	0	0	0	20	0	99	3,59E+17	0,0%	3,48E+23	-1,00	-												2	
Yersinia enterocolitica 1	41	100	98	0	74	0	0	98	0	49	0	98	6,26E+13	0,0%	2,10E+23	-2,17	-												2	
Yersinia enterocolitica 2	85	97	0	0	58	0	0	99	0	0	0	98	1,22E+15	0,0%	4,64E+23	-1,86	-												1	
Yersinia pseudotuberculosis	77	98	29	0	0	13	0	96	0	0	0	95	4,16E+17	0,0%	4,25E+23	-1,00	-												0	
Aeromonas hydrophila	96	98	61	50	0	50	0	0	0	85	99	98	1,14E+19	0,0%	1,18E+23	-0,34	-												3	
Plesiomonas shigelloides	95	99	0	100	100	0	0	1	0	99	99	99	4,85E+12	0,0%	9,03E+23	-2,76	-												0	
Vibrio alginolyticus/parahaemolyticus	0	99	19	98	75	61	0	5	0	99	100	47	1,23E+19	0,0%	1,79E+23	-0,39	-												0	
Vibrio vulnificus/cholerae	97	98	1	82	92	56	0	1	0	99	100	96	9,29E+16	0,0%	3,74E+23	-1,20	-												1	
Acinetobacter baumannii	0	85	75	0	0	54	0	0	0	0	0	3	1,13E+21	0,8%	3,38E+23	0,17	-												1	
Chryseobacterium indologenes	20	0	0	0	0	14	0	92	0	70	99	20	2,13E+19	0,0%	3,51E+23	-0,41	-												0	
Chryseobacterium meningosepticum	70	1	0	0	0	20	0	0	0	81	100	6	1,07E+20	0,1%	4,22E+23	-0,20	-												0	
Pseudomonas aeruginosa/fluorescens/putida	0	30	11	0	0	68	1	15	0	0	99	14	1,30E+23	87,6%	3,04E+23	0,88	Pseudomonas aeruginosa												0	
Pseudomonas spp	1	7	8	0	0	54	1	4	0	0	98	48	1,67E+22	11,2%	2,22E+23	0,63													0	
Shewanella putrefaciens	0	6	1	0	80	83	90	1	0	0	100	96	3,90E+19	0,0%	5,29E+23	-0,38	-												0	
Sphingobacterium multivorum	96	46	17	0	0	30	0	92	0	0	96	1	3,48E+20	0,2%	2,63E+23	0,04	-												0	
Stenotrophomonas maltophilia	60	1	0	48	0	76	1	0	0	0	0	4	4,63E+19	0,0%	1,65E+23	-0,18	-												0	

Figure. A2.1. Résultats des analyses biochimiques de la galerie AP 20E *pseudomonasaeruginosa*

Annexe 3

Tableau 2: les appareillages de laboratoire de la station d'épuration de Béni Mered Blida

Nom	Utilisé pour	Image
<p>LCK 314 gamme (15 à 150 mg/l DCO)</p> <p>LCK 114gamme (150 à 1000 mg/l DCO)</p>	<p>Les faibles concentrations de DCO</p> <p>Les fortes concentrations de DCO</p>	
<p>LCK 339 gamme(0.23 à13.50 mg/l NO3-N)</p>	<p>Déterminer la teneur de NO3-N</p>	
<p>LCK 341 gamme (0.015 à0.6 mg/l NO2-N)</p> <p>LCK 342 gamme (0.6 à6.0 mg/l NO2-N)</p>	<p>Déterminer la faible concentration de NO2-N</p> <p>Déterminer la forte concentration de NO2-N</p>	
<p>LCK 303gamme (2 à 47 mg/l NH4-N)</p> <p>LCK 305gamme (1 à 12 mg/l NH4-N)</p>	<p>Déterminer la forte concentration de NH4-N</p> <p>Déterminer la faible concentration de NH4-N</p>	



<p>LCK 348gamme (0.5-5 mg/l PT) LCK 350gamme (2-20 mg/l PT)</p>	<p>Déterminer la faible concentration de PT Déterminer la forte concentration de PT</p>	
<p>LCK338gamme (20-100 mg/l NT) LCK238gamme (5-40 mg/l NT)</p>	<p>Déterminer la forte concentration de NT Déterminer la faible concentration de NT</p>	
<p>Solution étalon PH4 Solution étalon pH 7 Solution étalon pH 9</p>	<p>Calibrage du pH mètre</p>	
<p>Nitrate réductase 1 Nitrate réductase 2</p>	<p>La recherche de l'enzyme nitrate réductase</p>	
<p>Réactif de Kovacs</p>	<p>La mise en évidence de la production d'indole</p>	
<p>Pastilles hydroxyde de Sodium</p>	<p>Absorber le CO2 dégagé par le microorganisme</p>	
<p>Solution chlorure de potassium</p>	<p>Calibrage les appareillages des mesure</p>	

Tableau 2: les appareillages de laboratoire de la station d'épuration de Béni Mered Blida

A blue and white spectrophotometer with a digital display and control buttons.	A digital pH meter with a probe and a display screen.	A digital conductivity meter with a probe and a display screen.
Spectrophotométrie	PH mètre	Conductimètre
A white laboratory refrigerator with two doors and a digital display on top.	A white laboratory oven with a digital display and control panel.	A digital thermostat with a display and control buttons.
Thermostatique	Etuve	Thermostat
A white muffle furnace with a digital display and control panel.	A glass desiccator with a lid and a blue cap.	A blue and black vacuum pump with a glass flask and tubing.
Four à moufle	Dessiccateur	Pompe sous vide
	A white centrifuge with a digital display and control panel.	
	centrifugeuse	

Tableau 03 : Les appareils de laboratoire de microbiologie d'hygiène Blida.






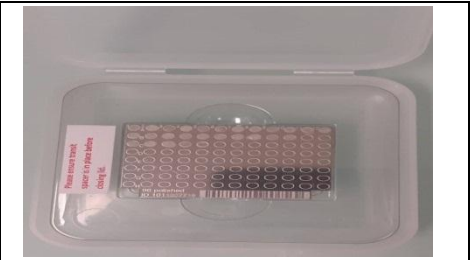

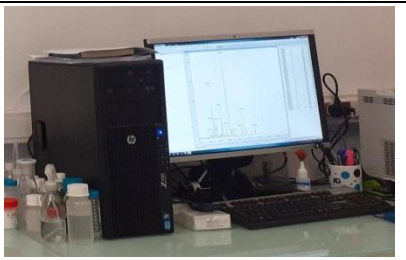
		
Autoclaves	Bain-marie	Incubateurs
		
Balance de précision	Bec Bunsen	Microscope optique
		
Distillateur d'eau	Agitateurs magnétique chauffants	

Tableau 04 : Les appareils de Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimique (CRAPC) à Bou-Ismaïl.

		
plaque	spectromètre de masse	Ordinateur

Annexe 4

La virure

- Bécher
- Pipettes pasteur
- Pipette stérile
- Eprouvette graduée
- Fiole
- Entonnoir
- Erlenmeyer
- Flacons stérile
- Portoir
- Seringue stérile
- Eppendorf
- Creuset
- Support de séchage
- Pince
- Bouteilles BOD Trak II
- Micropipette
- Tubes à essai
- Spatule
- Anse de platine
- Barreau magnétique
- Lames et lamelles
- Boîtes de pétries

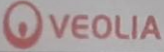


Verreries utilisées

Annexe 5

Tableau 05: Les valeurs limite des paramètres de rejet dans un milieu récepteur (journal officiel de la république algérienne, 2006)

Paramètre	Unité	Valeur limite
Température	C°	30
PH	-	6,5à8,5
DBO	mg /l	35
DCO	mg /l	120
Azote	mg /l	30
Phosphates	mg /l	2
Phosphore total	mg /l	10

OTV 		AUTONOMIE REACTIFS HACH LANGE ET CONSOMMABLES							Exploitation	
Station d'épuration des Eaux Usées de Beni Mared									Le 18/01/2022	
									Par :F.FERRAH	
Stock des réactifs laboratoire (micro-méthodes) HACH LANGE										
Réactifs		Stock		Nbre de cuves	Cuve/ analyse	Cuve/ semaine	Cuve/ Mois	Fréquence	Autonomie en mois	
DCO	LCK 314	Boite	2	50	1	1	4	1 F/S	13	
	LCK 514	Boite	0	0	1	1	4	1 F/S	0	
NT	LCK 238	Boite	2	50	1	0,5	2	1 F/2 S	25	
	LCK 338	Boite	2	50	1	0,5	2	1 F/2 S	25	
PT	LCK 348	Boite	0	0	1	0,5	2	1 F/2 S	0	
	LCK 350	Boite	3	75	1	0,5	2	1 F/2 S	37	
NH ₄ ⁺	LCK 303	Boite	1	25	2	1	4	1 F/2 S	6	
NO ₃	LCK 339	Boite	0	0	2	1	4	1 F/2 S	0	
NO ₂	LCK 341	Boite	0	0	2	1	4	1 F/2 S	0	
Cr ⁶	LCK 313	Boite	0	0	1	/	/	En cas des effluents industrielles	0	
S ²⁻	LCK 653	Boite	0	0	1	/	/		0	
TA	LCK 332	Boite	1	25	1	/	/		/	
Cl ⁻	LCK 311	Boite	1	25	1	/	/		/	
Inhibiteur de nitrification	Formule 2533	4 Flacon 50 ml			/	/	/	2 F/S	/	

Stock des réactifs laboratoires (micro-méthodes) HACH LANGE