



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Filière : Hydrobiologie Marine et Continentale

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master II

Option : Ecosystèmes Aquatiques

Thème :

**Isolement et identification des microorganismes des boues
activées de la station d'épuration de Baraki (W. Alger)**

Présenté par :

BOUCHA Romaïssa

&

KECHEROUD Maria

Membre du jury :

Mme BELMESKINE. H

MCA

USDB

Présidente

Mme KHETTAR. S

MAA

USDB

Examinatrice

Mme MOHAMED MAHMOUD. F

MCB

USDB

Promotrice

Mme OUDINA. H

Ingénieur

D'IPA

Co-promotrice

Année Universitaire 2018/2019

Introduction

Matériel et méthodes

Résultats et discussion

Recherche bibliographique

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Remerciement

Avant tout nous remercions Allah de nous avoir donné le courage et la sagesse pour pouvoir mener à terme ce modeste travail.

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier :

Notre promotrice M^{me} *Mohamed Mehimoud F*, pour son aide très précieuse, ses conseils et ses orientations dans la réalisation de ce travail.

Notre co-promotrice M^{elle} *Oudina H*, pour son aide, ses conseils et sa présence pendant notre stage.

M^{me} *Kfettar S*, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

M^{me} *Belmeskine H*, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nous remercions également à tout le personnel de l'Institut Pasteur d'Algérie, surtout M^{me} *Alamir H*, M^r *Yacin* et M^r *Nassim* qui nous ont sur le bon chemin et nous ont aidés pendant notre stage.

Nous remercions à tout le personnel du laboratoire de STEP de Baraki, surtout M^{me} *Bouhlouane Y* pour son aide pendant la période de stage.

Et en fin un grand merci à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects :

A mes parents :

Grace à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux,

Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

A mon frère Anes pour son soutien moral et pour tous ses efforts

A mes très chères sœurs Sanaa et Halima

A mon future époux m'a encouragé moralement et m'aide de continuer

A toute ma deuxième famille

A ma deuxième grande mère Ratiba et ses filles Kh adidja, Mazora et Hadjer

A mon oncle Yacine et sa femme Hadjer

A tous mes amis qui vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.

Maria

Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects :

A mes parents :

Grace à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux,

Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

A mon frère Hichem et sa femme Ahlem et leurs enfants Abd El Rahman et Arwa

A mon frère Mohammed et sa femme Nadjet et leurs enfants Haythem et Ayhem

A ma chère sœur Assia

A ma chère sœur Amina et son mari Hamza et leur fille Anfal

A mon cher petit frère Lokmen

A tous mes amis qui vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.

Romaissa

La liste des abréviations

ASR : Anaérobies sulfuto-réducteurs

BEA : biliée esculine azide

BHIB : brain heart infusion broth (bouillon infusion cœur cerveau)

E.coli : *Escherichia coli*

EPA : eau peptone alcaline

EPT : eau peptone tamponne

GNAB : gélose nutritive alcaline et biliée

GN : gélose nutritive

GVF : gélose viande foie

IPA : Institut Pasteur d'Algérie

KIA : hajna kligler lecture

MES : matières en suspensions

MVS : matières volatiles en suspensions

NAG : non agglutine

STEP : station de traitement des eaux polluées

TSE : eau physiologie peptone

TSI : triple sugar iron

TTC : triphenyl tetrazolium chloride

La liste des figures

Figure 1 : Schéma simplifier d'un système d'épuration par boues activées	3
Figure 2: Métabolisme d'une bactérie hétérotrophe ou autotrophe.	13
Figure 3 : localisation de l'unité de traitement de Baraki	20
Figure 4 : un bassin d'aération	19
Figure 5 : un clarificateur circulaire	19
Figure 6 : Observation microscopique d' <i>Arcella</i> sp (G : 40X)	34
Figure 7 : Observation microscopique de <i>Litonotus</i> sp (G : 40 X)	35
Figure 8 : Observation microscopique de <i>Paramecium</i> sp (G : 40X)	36
Figure 9 : Observation microscopique de <i>Vorticelle</i> à pédoncule long (G : 40X).	37
Figure 10 : Observation microscopique de <i>Zoothamnium pygmaeum</i> (G :40X).	38
Figure 11 : Observation microscopique d' <i>Aspidisca costat</i> (G :40X).	39
Figure 12 : Observation microscopique de <i>Digononta</i> (G :40X).	40
Figure 13 : Variation de MES du bassin d'aération (C et D) de la STEP de Baraki (période du 10 Février au 8 Avril 2019).	41
Figure 14 : Variation de l'indice de boue (IB) du bassin d'aération (C et D) de la STEP de Baraki (période du 10 Février au 8 Avril 2019).	42
Figure 15 : Variation de MVS du bassin d'aération (C et D) de la STEP de Baraki (période du 10 Février au 8 Avril 2019).	43
Figure 16 : Aspect des Coliformes sur TTC et Tergitol	44
Figure 17 : Aspect des Coliformes sur Hékteon	44
Figure 18 : formation d'un halo rose dans l'eau peptone exempte d'indole d'une souche E.coli	45
Figure 19 : Oxydase d'une souche d'E. coli	45
Figure 20 : Identification d'E.coli dans les différents prélèvements.	46
Figure 21 : Aspect des Streptocoques fécaux sur Slanetz et Bartley	46
Figure 22 : Aspect des Streptocoques fécaux du groupe D sur BEA	47
Figure 23 : Identification des Streptocoques fécaux dans les différents prélèvements	48

Figure 24 : Aspect des ASR sur G.V.F	48
Figure 25 : Identification des ASR dans les différents prélèvements.	49
Figure 26 : Aspect de <i>Pseudomonas aerogenosa</i> sur Cétrémide	50
Figure 27 : Aspect de <i>Pseudomonas aerogenosa</i> sur GN	50
Figure 28 : Api ₂₀ NE d'une souche de <i>Pseudomonas aerogenosa</i>	52
Figure 29 : Identification de <i>Pseudomonas aerogenosa</i> dans les différents prélèvements	53
Figure 30 : Aspect de Staphylocoque sur Chapman	53
Figure 31 : Aspect de Staphylocoque sur Chapman (purification)	53
Figure 32 : Identification des staphylocoques dans les différents prélèvements	55
Figure 33 : Deuxième enrichissement	56
Figure 34 : Premier enrichissement	56
Figure 35 : Aspect de <i>Vibrio cholerae</i> sur GNAB	56
Figure 36 : teste d'oxydase du genre <i>vibrio</i>	57
Figure 37 : Aspect de <i>Vibrio</i> sur KIA	57
Figure 38 : Api ₂₀ E d'une souche de <i>Vibrio cholerae</i> NAG	60
Figure 39 : Api ₂₀ NE d'une souche de <i>Vibrio cholerae</i> NAG	60
Figure 40 : Identification de <i>Vibrio</i> sp dans les différents prélèvements	61
Figure 41 : Premier enrichissement dans des flacons de SFB	62
Figure 42 : Premier enrichissement dans des tubes SFB	62
Figure 43 : une colonie suspecte de salmonelle sur Héktoen	62
Figure 44 : TSI de quelque Colonies suspectes	63
Figure 45 : Identification des bactéries pathogènes dans les boues activées	63

La liste des tableaux

Tableau I : populations des boues activées.	10
Tableau II : nature et nombre de prélèvement.	23
Tableau III : Nature des prélèvements et nombre des souches <i>d'E.Coli</i> .	45
Tableau IV : nature de prélèvement et nombre des souches de Streptocoque fécaux.	47
Tableau V : nature de prélèvement et le nombre des souches des ASR.	49
Tableau VI : les résultats de la galerie Api 20NE de <i>Pseudomonas aerogenosa</i> .	51
Tableau VII : nature de prélèvement et nombre des souches de <i>Pseudomonas aerogenosa</i> .	52
Tableau VIII : nature de prélèvement et nombre des souches des Staphylocoques.	54
Tableau IX : les résultats de la galerie Api 20 E de <i>Vibrio</i> sp.	58
Tableau X : résultats de la galerie Api 20 NE de <i>Vibrio</i> sp.	59
Tableau XI : nature de prélèvement et nombre des souches de <i>Vibrio</i> sp.	60
Tableau XII : résultats des analyses bactériologiques des différents prélèvements.	64
Tableau XIII : résultats des analyses physico-chimique, l'observation microscopique et les analyses bactériologiques des différents prélèvements	65
Tableau XIV : résultats des analyses physico-chimiques	Annexe II
Tableau XV : résultats des observations microscopiques des boues activées (bassin d'aération C)	Annexe III
Tableau XVI : de résultat des observations microscopiques des boues activées (bassin d'aération D)	Annexe III

Table des matières

Abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : Recherche bibliographique

I. Les eaux usées3

I.1. Origine et composition des eaux usées3

I.1.1. Les eaux usées domestiques3

I.1.2. Les eaux usées industrielles3

I.1.3. Les eaux agricoles4

I.1.4. Les eaux pluviales.....4

I.2. Traitement des eaux usées.....4

I.3. Principe du traitement des eaux par boues activées4

I.3.1. Le prétraitement5

I.3.2. La décantation primaire5

I.3.3. Le bassin biologique6

I.3.3.1. Systèmes d'aération.....6

I.3.4. La décantation secondaire	7
I.4. Problèmes biologiques dans le procédé à boues activées.....	7
I.4.1. Foisonnement des boues activées	8
I.4.2. Le moussage.....	9
I.5. Les paramètres physico-chimiques de mesure	9
I.5.1. Décantabilité des boues.....	9
I.5.2. Les matières en suspension.....	9
I.5.3. Les matières volatiles en suspension.....	9
I.6. Présentation de la biomasse épuratrice des boues activées	9
I.6.1. Définition des boues activées	10
I.6.2. Les éléments nécessaires au développement des microorganismes	11
I.7. Les microorganismes et la microfaune des boues activées	11
I.7.1. Microfaune et microflore	11
I.7.1.1. La microfaune	11
I.7.1.2. Les bactéries	13
I.8. Présentation de la société SEAAL	20
I.9. Description de la STEP de Baraki	20

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel	23
II.2. Méthodes	23
II.2.1. Prélèvement et transport des échantillons	23
II. 3. Observation microscopique de la microfaune des boues activées	24
II.4. Les Analyses physico-chimiques des boues activées	24

II.4.1. Détermination de la matière en suspension.....	24
II.4.2. Détermination de l'indice de boue et l'indice de Mohlman	25
II.4.3. Détermination de la matière volatile en suspension.....	26
II.5. Les Analyses bactériologiques des boues activées et de l'eau de sortie	26
II.5.1. Méthode de filtration sur membrane	26
II.5.2. Ensemencement	27
II.5.3. Recherche des bactéries pathogènes.....	27
II.5.3.1. La recherche des Coliformes totaux et fécaux	27
II.5.3.2. La recherche des Stréptocoques fécaux	28
II.5.3.3. La recherche des Anaérobies <i>sulfuto-reductrices</i>	29
II.5.3.4. La recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29
II.5.3.5. La recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
II.5.3.6. La recherche de <i>Vibrio cholerae</i>	31
II.5.3.7. La recherche de <i>Salmonella</i>	33

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Observation microscopique de la microfaune des boues activées	34
III.1.1. Les protozoaires	34
III.2. Les analyses physico-chimiques des boues activées	41
III.2.1. Matières en suspension (MES)	41
III.2.2. Indice des boues (IB) ou indice de Mohlman (IM)	42
III.2.3. Matière volatile en suspension (MVS)	43
III.3. Les analyses bactériologiques des boues activées et de l'eau de sortie.....	44
III.3.1. Identification des coliformes totaux et fécaux	44
III.3.2. Identification des Streptocoques fécaux	46
III.3.3. Identification des Anaérobies Sulfite-Reducteurs	48
III.3.4. Identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
III.3.5. Identification des <i>Staphylococcus aureus</i>	5

III.3.6. Identification du <i>Vibrio</i> sp.....	55
III.3.7. Identification de <i>Salmonella</i>	61
III.4. Représentation graphique de l'identification des bactéries pathogènes dans les boues activées	63
Conclusion.....	67
Références bibliographiques	69
Annexes	

Résumé

Notre travail a pour but d'étudier les caractéristiques physico-chimiques, microscopiques et bactériologiques des boues activées de la STEP de Baraki (Wilaya d'Alger). 54 prélèvements (50 boues activées et 4 eaux de sortie) ont été effectués durant la période allant de 3 mois (Février jusqu'au Avril 2019).

Nous avons étudié quelques paramètres physico-chimiques tel que : matière en suspension, matière volatile en suspension, Indice de Mohlman et l'observation microscopique des boues activées au niveau du laboratoire de la STEP de Baraki. Ainsi que les paramètres bactériologiques, notamment la recherche et l'identification des Coliformes totaux et fécaux notamment *Escherichia coli*, les streptocoques fécaux, les anaérobies sulfite-réducteur, les Staphylocoques, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae* et *Salmonella* au niveau de laboratoire de bactériologie des aliments, des eaux et d'environnement de l'Institut Pasteur d'Algérie.

Les résultats physico-chimiques des boues activées montrent que les MES présentent une moyenne de 3,82 g/l, MVS avec une moyenne de 54,44% et l'indice de Mohlman avec une moyenne de 193ml/l, ce qui indique un bon fonctionnement de la STEP. L'observation microscopique de la boue activée montre la présence des différents espèces de protozoaires englobant *Zoothamnium pygmaeum*, *Vorticelles* à pédoncule long, *Litonotus*, *Aspidisca costata*, *Arcella*, *Paramecium* et une espèce de métazoaires (Rotifère *Digononta*). Ces derniers sont des indicateurs d'une épuration correcte. Les analyses bactériologiques sont indiquées que la boue activée renferme une charge très importante des germes pathogènes ; les anaérobies sulfite-réductrices et des streptocoques fécaux avec un taux de 26%, D'*E.coli* 15%, *Pseudomonas aeruginosa* 16%, les Staphylocoques 10%, de *Vibrio* sp 7% et absence de *Salmonella*.

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 plus spécialement la matière azotée et sulfatée.

Mots clés : STEP, boue activée, analyse physico-chimique, protozoaire et métazoaire, analyse bactériologique.

Abstract

Our work aims to study the physico-chemical, microscopic and bacteriological characteristics of activated sludge of the wastewater treatment plant in Baraki (Algiers). 54 samples (50 activated sludge and 4 outlet water) were taken during the period from 3 months (February to April 2019).

We have studied some physico-chemical parameters such as : solids matter in suspension, volatile matter in suspension and the Mohlman index, and the microscopic observation of activated sludge at the laboratory of the Baraki treatment plant. As well as the bacteriological parameters, in particular the research and the identification of *anaérobies sulfite-réductrices*, streptocoques fécaux, Staphylocoques, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholera* and *Salmonella* at laboratory level bacteriology of food, water and environment of the Pasteur institute of Algeria.

The physico-chemical results of activated sludge (MES with an average of 3,82mg/L, MVS with an average of 54,44% and the Mohlman index with an average of 193ml/l) indicated a good operation of the treatment plant. The microscopic observation of this mud shows the presence of the different species of protozoa (*Zoothamnium pygmaeum*, *Vorticelles à pédoncule long*, *Litonotus*, *Aspidisca costata*, *Arcella*, *Paramecium*) and one species of metazoans (Rotifère *Digononta*), the latter are indicators of a correct purification. Concerning bacteriological analyses indicated that activated sludge contains a very high load of pathogenic germs (*anaérobies sulfite-réducteur* and Streptocoques fécaux 26%, *E. coli* 15% , *Pseudomonas aeruginosa* 16%, staphylocoques 10% and *Vibrio* sp 7%).

Through these results we can deduce that activated sludge plays an important role in the biological treatment of wastewater.

Keywords : wastewater treatment plant, activated sludge, physico-chemical analyses, protozoa and metazoans, bacteriological analyses,

الملخص

تهدف هذه الدراسة الى دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية المجهرية و البكتريولوجية الاوحوال المنشطة من محطة معالجة المياه المستعملة لبراقى تم اخذ 54 عينة : 50 من الاوحوال المنشطة و 4 من مخرج المياه.

لقد درسنا بعض المعايير الفيزيوكيميائية مثل : MVS, MES و مؤشر Mohlman و الملاحظة المجهرية للاوحوال المنشطة في مختبر محطة معالجة المياه المستعملة لبراقى , و كذلك المعايير البكتريولوجية من اجل البحث عن :

les anaérobies *sulfuto-reductrice*, streptocoque fécaux, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*
Staphylocoques, *Vibrio* sp, et Salmonella

في مختبر باستور بالجزائر .

النتائج الفيزيوكيميائية للاوحوال المنشطة : MES بمتوسط 3,82g/l, MVS بمتوسط 54,44% و مؤشر Mohlman بمتوسط 193ml/l يشير الى السير الجيد للمحطة، تظهر الملاحظة المجهرية وجود انواع مختلفة من protozoaire *Zoothamnium pygmaeum*, *Vorticelles à pédoncule long*, *Litonotus*, *Aspidisca costata*, *Arcella*,

ونوع واحد من métazoaire وهو Rotifère Digononta وهذه الاخيرة من مؤشرات التنقية الصحيحة فيما يتعلق بالتحليلات البكتريولوجية اشارت الى ان الاوحوال المنشطة تحتوي على حمولة عالية للغاية من الجراثيم المسببة للامراض:

les anaérobies *sulfuto-reductrices* et Streptocoque fécaux 26%, *E.coli* 16%, *Pseudomonas aeruginosa* 15%, Staphylocoques 10% et *Vibrio* sp 7% et Salmonella 0%.

من خلال هذه النتائج يمكننا استنتاج ان الاوحوال المنشطة تلعب دورا هاما في المعالجة البيولوجية للمياه المستعملة.

الكلمات المفتاحية : محطة معالجة المياه المستعملة, الاحال النشطة, المعايير الفيزيوكيميائية, protozoaire و métazoaire, المعايير البكتريولوجية.

Introduction :

L'eau est un bien précieux qui subit diverses pollutions et dégradations, les écosystèmes et la santé des personnes en sont directement impactés. Les pollutions présentes dans l'eau sont d'origines diverses : industrielle, domestique ou agricole (**Bassompierre, 2007**).

Les procédés de traitement qui recueillent ces eaux usées sont composés de plusieurs phases, chacune traitant un type particulier de pollution organique, chimique et minérale. De par ses excellentes performances, la phase de traitement biologique par boues activées représente la phase clé de la chaîne globale de traitement (**Bassompierre, 2007**).

La date de naissance du procédé par les boues activées remonte à l'an 1914, quand deux chercheurs anglais Edward ARDERN et William LOCKETT présentèrent à la société de chimie industrielle de LONDRE un compte rendu de leurs travaux intitulés «Expériences sur l'oxydation des eaux d'égout sans intervention de filtre» (**Degremont, 1978**).

Le procédé d'épuration par boues activées est le plus répandu dans le monde. En Algérie, ce procédé est le plus retenu aujourd'hui dans les stations d'épuration assurant un traitement secondaire. Les boues activées sont utilisées comme épuration biologique dans le traitement des eaux usées.

Les boues activées forment un écosystème très complexe où cohabitent différentes souches bactériennes et une microfaune représentée par les protozoaires (*Zoothamnium pygmaeum*, *Vorticelles* à pédoncule long, *Litonotus*, *Aspidisca costata*, *Arcella*, *Paramecium*) et métazoaire (Rotifère Digononta), alors que les bactéries sont les actrices principales du traitement mais les autres formes biologiques gravitant autour d'elles sont indispensables au bon équilibre de l'écosystème (**Pujol et al, 1990**). Les bactéries et la microfaune sont spécifiques du type de traitement de l'installation (**Canler et al., 1999**).

Il existe dans les boues activées des bactéries bénéfiques englobant les bactéries nitrifiantes, les bactéries dénitrifiantes et les bactéries déphosphorylantes ainsi que des bactéries pathogènes représentées par *E.coli*, streptocoques fécaux, les anaérobies *sulfito-reductrices*, *Pseudomonas aeruginosa*, Staphylocoques et *Vibrio cholerae*.

C'est dans cet objectif que s'inscrit notre travail basé sur la caractérisation physico-chimique, et l'identification des protozoaires, métazoaires et des bactéries pathogènes des boues activées.

Le présent document est composé de :

- Premier chapitre représente des généralités sur le principe de l'épuration biologique par les boues activées, avec la présentation des microorganismes des boues activées.
- Dans le deuxième chapitre, il y a une présentation et une description générale de la STEP de Baraki, et présentation du matériel et les méthodes analytiques utilisées dans cette étude.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats expérimentaux obtenus ainsi que leurs interprétations et discussion.

En fin le travail se terminera par une conclusion qui synthétisera les principaux résultats obtenus lors de cette étude.

I. Les eaux usées :

La pollution de l'eau est une modification défavorable ou nocive des propriétés physico-chimiques et biologiques, produite directement ou indirectement par les activités humaines, les rendant impropres à l'utilisation normale établie. Les eaux usées comprennent les eaux des activités domestiques, agricoles et industrielles chargées en substances toxiques qui parviennent dans les canalisations d'assainissement. Elles englobent également les eaux de pluies et leur charge polluante et engendrent sur le milieu récepteur toutes sortes de pollution et de nuisance (**Dugniolle, 1980**).

I.1. Origine et composition des eaux usées :

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

I.1.1. Les eaux usées domestiques :

Les eaux usées domestiques comprennent les eaux ménagères (eaux sanitaires, eaux de lessive, eaux de cuisine) et les eaux de vannes (urines et matières fécales) dans le système dit « tout-à-l'égout » (**Baumont et al., 2004**). Les eaux usées domestiques contiennent des matières minérales et organiques. Les matières minérales sont constituées de chlorures, phosphates, sulfates, etc. et les matières organiques de composés ternaires, telles que les sucres et les graisses qui sont formés de carbone, d'oxygène et d'hydrogène, mais aussi d'azote et dans certains cas, d'autres corps tels que le soufre, le phosphore, le fer, etc (**Vaillant, 1974**).

I.1.2. Les eaux usées 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 sont chargées en différentes substances chimiques organiques et métalliques. Selon leur origine industrielle elles peuvent également contenir des graisses d'industries agroalimentaires et d'équarrissage, des hydrocarbures (raffineries), des métaux (traitements de surface, métallurgie), des acides, des bases et divers produits chimiques (industries chimiques divers, tanneries), de l'eau chaude (circuit de refroidissement des centrales thermiques), des matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs) (**Baumont et al., 2004**).

Les rejets industriels peuvent suivre trois voies d'assainissement soit ils sont directement rejetés dans le réseau domestique, soit ils sont prétraités puis rejetés dans le

réseau domestique, soit ils sont entièrement traités sur place et rejetés dans le milieu naturel (Baumont et *al.*, 2004).

I.1.3. Les eaux agricoles :

L'agriculture est une source de pollution des eaux qui n'est pas du tout négligeable car elle apporte les engrais et les pesticides. Elle est la cause essentielle des pollutions diffuses (Bontoux, 1993).

I.1.4. Les eaux pluviales :

Elles peuvent aussi constituer une source de pollution importante des cours d'eau, notamment pendant les périodes orageuses. L'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air (fumées industrielles), puis en ruisselant, des résidus déposés sur les toits et les chaussées des villes (huiles de vidange, carburants, résidus de pneus et métaux lourds...) (Bontoux, 1993).

I.2. Traitement des eaux usées :

Avant tout procédé d'évacuation ou réutilisation des eaux usées, le traitement de ces dernières est nécessaire pour protéger l'environnement et la santé publique ainsi que la santé animale de tout danger. L'épuration des eaux usées consiste à décanter les éléments polluants particuliers et à extraire les éléments dissous qui sont transformés en matière sédimentable suite à un traitement approprié. Ainsi, à la sortie de la station, il résulte d'une part une eau épurée rejetée dans le milieu naturel et d'autre part, il reste des sous-produits désignés sous le terme des boues résiduaires (Amir, 2005).

I.3. Principe du traitement des eaux par boues activées :

Le procédé d'épuration par boues activées consiste à mettre en contacte dans un réacteur biologique aéré des effluents chargés en polluants avec une biomasse épuratrice (figure 1).

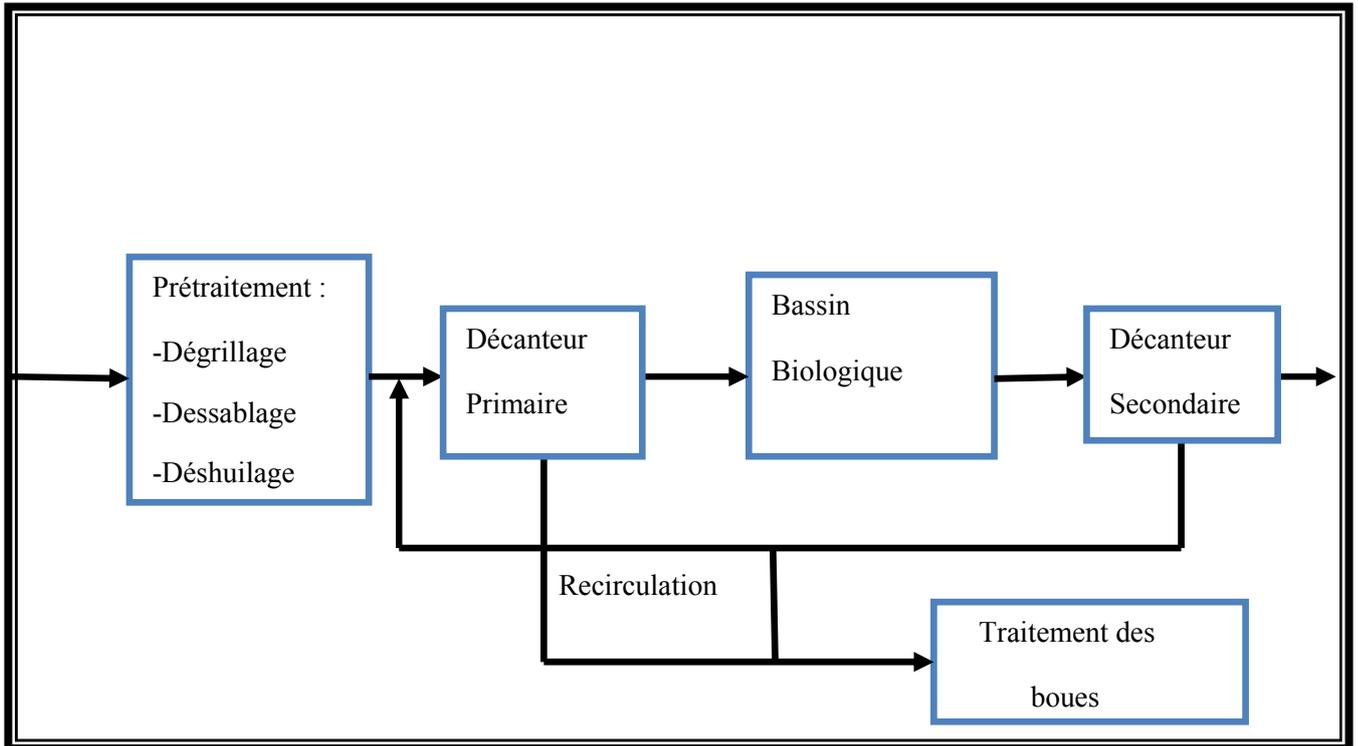


Figure 1 : Schéma simplifié d'un système d'épuration par boues activées (Pandolfi, 2006).

I.3.1. Le prétraitement :

Il permet d'éliminer les matières les plus grossières susceptibles d'endommager les appareillages ou de perturber les étapes ultérieures. On trouve au niveau du prétraitement des systèmes mécaniques (dégrilleur, tamis) et des systèmes physiques qui font appel à des procédés de décantation pour les sables (désableur) et de flottation pour les graisses (Pandolfi, 2006).

I.3.2. La décantation primaire :

Il s'agit d'une décantation qui permet d'éliminer les matières en suspension décantables et donc de diminuer la concentration en pollution à l'entrée du bassin biologique. Dans certains procédés on utilise des réactifs chimiques pour favoriser la décantation des petites particules. Les boues soutirées du décanteur sont dirigées vers le traitement de boues (dégestion anaérobie, centrifugation, séchage) (Pandolfi, 2006).

I.3.3. Le bassin biologique :

La plupart des procédés destinés à l'épuration des eaux usées d'origine urbaine ou industrielle font intervenir une phase biologique aérobie. Au cours de cette phase, les microorganismes dégradent la matière organique par oxydation et les matières en suspension (MES) sont retenues par les bioflocs. Les bactéries retirent de cette opération l'énergie nécessaire à leur survie et la synthèse de composé de réserve. L'alternance d'un bassin d'anoxie et d'un bassin d'aération permet de réaliser l'élimination des matières azotées. C'est dans le bassin d'anoxie qu'a lieu la dénitrification. Il reçoit la liqueur mixte qui assure l'apport en nitrates formés dans le bassin d'aérobie, les eaux brutes et les boues recirculées qui maintiennent la concentration en flore dénitrifiante. La présence des microorganismes dans le bassin biologique entraîne le développement d'une microfaune composée principalement d'organismes prédateurs (protozoaires et métazoaires). Les bactéries et la microfaune sont spécifiques au type de traitement de l'installation (**Pandolfi, 2006**).

I.3.3.1. Systèmes d'aération :

Les systèmes d'aération ont deux fonctions importantes à remplir :

- Introduire une quantité d'oxygène déterminée dans l'eau, nécessaire à la satisfaction des besoins correspondant à l'oxydation de la pollution organique et à l'autodestruction de la masse bactérienne lors de la phase de respiration endogène.
- Brasser la suspension de boues activées pour en assurer l'homogénéité et éviter les dépôts.

Les principaux dispositifs d'oxygénation utilisés sont :

a) Les aérateurs de surface :

Les aérateurs de surface se divisent en trois groupes selon **Berland et al.(2002)** :

- Les aérateurs à axe vertical, à vitesse lente varie entre 4 et 5 m/s, ce qui correspond a des vitesses de rotation allant de 40 tr/min pour les mobiles les plus puissants (75 kW) a 100 tr/min pour les petites unités
- Les aérateurs à axe vertical à grande vitesse de 1000à1800 tr/min

b) Les aérateurs à axe horizontal : ils sont montés soit longitudinalement, soit transversalement entraînés directement par un moteur électrique de vitesse 750 ou 1500 t/min, équipé par une hélice de faible diamètre. Ce type d'aérateur est mieux adapté au lagunage qu'a bassin d'aération (**Degremont, 2005**).

Les aérateurs à surpression d'air :

L'aération par l'air surpressé consiste à injecter l'air sous pression dans le liquide à l'aide d'un dispositif approprié, en fonction du diamètre des bulles d'air, les aérateurs se divisent en trois groupes :

- **Des grosses bulles** : ($Q > 6$ mm) : cannes verticales ou diffuseurs à larges orifices.
- **Des bulles moyennes** : ($Q > 4$ mm) : type clapets vibreurs, lames vibrantes disposées en larges bandes au fond des bassins.
- **Des fines bulles** : ($Q > 2$ mm) avec une diffusion à travers des corps poreux du type dômes ou disques en céramique ou mieux à travers des dispositifs à membranes en élastomère généralement de forme tabulaire qui ont l'avantage de ne pas présenter de risques de colmatage (Roger et al., 1990).

I.3.4. La décantation secondaire :

Cette phase du traitement permet de séparer par décantation les floccs bactériens formés dans le bassin et l'eau épurée. Une partie des boues épaisses au fond du décanteur est recirculée vers le bassin biologique pour maintenir une concentration optimale en boues. L'excédent éventuelle des boues est extrait et envoyé vers le traitement des boues. L'apparition éventuelle des phénomènes de bulking ou de moussage provoque des dysfonctionnements importants au cours de cette étape. Le bon fonctionnement de l'étape de décantation secondaire conditionne donc l'efficacité du procédé de boues activées (Pandolfi, 2006).

I.4. Problèmes biologiques dans le procédé à boues activées :

I.4.1. Foisonnement des boues activées :

On entend par foisonnement filamenteux, appelé "Bulking sludge" dans le langage anglosaxon, la présence des bactéries filamenteuses qui perturbent les propriétés de décantation de la boue (indice de boue élevé supérieur à 200 ml/g) et donc compromettent la qualité de l'eau épurée. Les nuisances provoquées par les filaments bactériens sont proportionnelles à leur densité et surtout à leur longueur. Elles dépendent également des espèces filamenteuses présentes, certaines étant plus pernicieuses que d'autres (Degremont, 2005).

I.4.2. Le moussage :

Les mousses forment des amas de flottants très stables de couleur marron clair à foncé et des structures visqueuse. Leur densité tend à s'accroître progressivement au cours du temps.

Ces mousses sont peu déstructurées par une agitation de surface et reforment rapidement un tapis uniforme en absence d'agitation. Les bulles de gaz favorisent la flottation. Ces flottants constituent un milieu favorable au développement privilégié de certaines bactéries filamenteuses responsables de moussage plus spécialement *Nocardia* spp et *Microthrix parvicella*. Ces bactéries à croissance lente sont couramment associées à la présence d'huiles et graisses, à une température relativement élevée (supérieure à 18°C) et à des âges de boues importants (supérieurs à 9 jours).

Dans certains cas extrêmes, les mousses peuvent représenter jusqu'à 1/3 de la biomasse totale, avec des concentrations en matières sèches pouvant atteindre 100 mg/l, voire des hauteurs dépassant un mètre. Les paramètres de fonctionnement (charge massique) et d'exploitation de la station sont alors fortement dégradés par cette situation (diminution du transfert d'oxygène). En raison de sa stabilité, la mousse est très difficile à éliminer par des moyens chimiques, même si l'aspersion de la boue par de l'eau chlorée peut constituer, à court terme, une méthode intéressante.

Les moyens de lutte les plus efficaces doivent s'orienter vers la suppression des conditions qui encouragent la croissance des germes filamenteux responsables du moussage à savoir :

- Suppression des substrats préférentiels tels que les graisses et les acides gras ;
- Construction de bassin sans possibilité d'accumuler de flottants: éviter les parois immergées qui piègent l'écume, construire des puits de dégazage permettant d'éliminer les flottants ;
- Evacuation des écumes hors des réacteurs biologiques pour éviter leur recyclage et le réensemencement permanent du système (**Degrement, 2005**).

I.5. Les paramètres physico-chimiques de mesure :

I.5.1. Décantabilité des boues :

Le bon fonctionnement d'une station de boues activées repose sur celui du bassin d'aération, mais également sur celui du clarificateur. Pour que ce dernier puisse séparer efficacement la biomasse de l'eau traitée, cette biomasse doit être correctement floculée. Un

moyen simple et pratique d'apprécier l'aptitude d'une boue à la décantation est de déterminer son indice de Molhman (ou appelé encore indice de boue) (**Andreoni, 1989**).

L'indice de Molhman est le volume occupé par un gramme de MES après décantation d'une demi heure de un litre de boue activé dans une éprouvette graduée. Ce paramètre dépend, pour une teneur donnée de MES, de l'état de minéralisation et de la phase de croissance dans laquelle se trouve les boues (**Andreoni, 1989**).

L'indice de boues est un outil précieux, qui à de multiples applications au niveau de la station d'épuration :

- Suivi préventif de l'évolution de la qualité des boues ;
- Mise en évidence d'un foisonnement ;
- Appréciation de l'efficacité des solutions techniques mise en œuvre pour améliorer la décantabilité de la boue ;
- Vérification des performances du décanteur secondaire ;
- Aide de gestion de la production de boues dans les périodes où l'indice de boue est stable;
- Caractérisation des boues en vue de leur déshydratation (**Canler, 2005**).

I.5.2. Les matières en suspension :

Les matières en suspension qui sont estimées par la mesure du poids sec de l'échantillon et comprennent les matières minérales et organiques (**Tomas, 1995**).

I.5.3. Les matières volatiles en suspension :

Les matières volatiles en suspension qui sont définies par la différence entre les poids des matières sèches en suspension avant et après calcination (**Tomas, 1995**).

I.6. Présentation de la biomasse épuratrice des boues activées :

I.6.1. Définition 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, le dénombrement de la population prélevée sur une station de boues activées donne le type de valeurs présentées dans le tableau I

Tableau I : Populations des boues activées (Canler et al., 1999)

Population par litre de boues	Espèce
De 1 à 5. 10 ⁵ / L	Métazoaires (rotifères, nématodes)
10 ⁷ /L	Protozoaires (flagellés, ciliés)
10 ¹² /L	Bactéries (floculées, filamenteuses)

Les boues activées forment donc un écosystème très complexe où cohabitent différentes souches bactériennes et une microfaune. Les bactéries trouvées dans les boues peuvent être :

- De type unicellulaire de forme sphérique ou cylindrique (0,5 et 5µm)
- De type pluricellulaire dont la taille est souvent compris entre 10 et 500 µm

Un classement en fonction de la source carbonée est possible :

- Les bactéries utilisant à la fois la matière organique comme source de carbone et comme source énergétique pour le métabolisme appelées hétérotrophes.
- Les germes autotrophes utilisant le carbone des bicarbonates et CO₂ comme source de carbone.

Dans les procédés de boues activées, ces deux populations cohabitent alors que leurs métabolismes sont très différents (Canler et al., 1999).

I.6.2. Les éléments nécessaires au développement des microorganismes :

Le terme « substrat » désigne les substances constituant la nourriture nécessaire au développement des microorganismes, les composés organiques à dégrader représentant la majorité de ces substances. Si le substrat n'est pas sous une forme directement assimilable par la bactérie, il sera hydrolysé à l'extérieur de la cellule bactérienne par des enzymes.

L'azote ammoniacal et les phosphates sont utilisés en tant que nutriments car ils entrent dans la composition des composés cellulaires (protéines, membrane cellulaire, ADN). L'oxygène dissous est également indispensable au développement des bactéries aérobies (Bassompierre, 2007).

I.7. Les microorganismes et la microfaune des boues activées :

I.7.1. Microfaune et microflore :

La faune et la flore bactérienne, appelées encore biomasse, représentent l'ensemble des êtres vivants, animaux et végétaux, présents dans le milieu considéré. Les bactéries sont les actrices principales du traitement mais les autres formes biologiques gravitant autour d'elles (protozoaires, métazoaires,...) sont indispensables au bon équilibre de l'écosystème. Les espèces varient suivant le type de station de traitement et sont caractéristiques du fonctionnement d'une station. Entre toutes ces espèces se créent alors des relations de compétition, certaines vont se développer plus facilement au détriment d'autres qui resteront minoritaires ou tendront à disparaître (**Pujol et al, 1990., Calner et al., 1999**).

I.7.1.1. La microfaune :

Selon **CANLER et al. (1999)** la microfaune représente une quantité de l'ordre 10^5 à 10^7 individus par litre de boues activées. Cette microfaune joue un rôle de prédateur des bactéries isolées et des bactéries mortes et ainsi participe à la clarification des effluents. Selon l'organisation cellulaire des microorganismes, on distingue deux familles principales : les protozoaires et les métazoaires.

❖ Les métazoaires :

Les métazoaires sont des organismes pluricellulaires dont la taille peut aller de 100 μm à 1mm. Leur organisation cellulaire est plus complexe que celle des microorganismes unicellulaires et leur cycle de croissance est très lent. On les trouve essentiellement dans des installations avec des âges de boues élevés (station à faible charge d'aération prolongée). Parmi les principaux métazoaires présents dans les boues activées de la station d'épuration, on trouve essentiellement deux familles : Les nématodes et les rotifères (**Canler et al., 1999**).

➤ Les nématodes :

Les nématodes sont présents dans les boues subissant une digestion aérobie. On les trouve dans les flocs et leur rôle de prédation bactérien leur permet de contribuer au renouvellement de la biomasse épuratrice (**Canler et al., 1999**).

❖ Les rotifères :

Un âge de boue élevé est favorable au développement de rotifères. Leur présence stimule l'activité et la décomposition de la microflore (algues). Assez sensibles aux composés toxiques, ils se développent dans des boues âgées et bien oxygénées. **(Degremont, 1989)**.

• *Rotifère Digononta* :

Métazoaire de taille comprise entre 100 et 250 µm, corps télescopique, pied plus long que le corps lorsque l'individu est déployé, présence de deux couronnes ciliaires adjacentes à l'extrémité antérieure (forme « de roues », très visible lorsque l'animal est à l'arrêt), pied composé d'un à plusieurs articles suivant la famille, animal mobile (nage, reptation) ou fixé au floc par son pied, forme caractéristique lorsque déployé **(Canler et al., 1999)**.

❖ Les protozoaires :

Ce sont des organismes eucaryotes, unicellulaires, mobiles et de taille pouvant aller de 1 à 500 µm. Ils se nourrissent essentiellement de bactéries et de molécules organiques dissoutes **(Gerardi et al, 1990)**. Le rôle principal des protozoaires est avant tout la clarification de l'effluent par prédation des bactéries libres. Les protozoaires sont très bons indicateurs du fonctionnement des stations d'épuration. En effet cette microfaune est très sensible aux modifications environnementales : substrats, oxygène, produit toxiques... **(Degremont, 1989)**. Il existe un grand nombre d'espèces de protozoaires fixés ou mobiles au niveau des floes : *Zoothamnium pygmaeum*, *Vorticelles* à pédoncule long, *Litonotus*, *Aspidisca costata*, *Arcella*, *Paramecium*.

• *Zoothamnium pygmaeum* :

Zoothamnium pygmaeum possède une longueur du corps 80µm, plusieurs individus par pédoncule, corps en forme de « cloche » ciliature buccale large, pédoncule avec myonème continu au niveau des embranchements (tous les individus se contractent ainsi simultanément), macronucléus allongé situé verticalement à la périphérie du corps, une vacuole contractile près de la cavité buccale **(Canler et al., 1999)**.

- ***Vorticelles à pédoncule long (*Vorticella convallaria*) :***

Vorticella convallaria grande vorticelle de 60 à 120µm de long, forme solitaire, corps en forme de « cloche », strié ou non suivant l'espèce, présence d'un myonème (donc rétractile), couronne de cils large, un long macronucléus de forme variée (Canler et al., 1999).

- ***Litonotus sp :***

Litonotus sp présente une taille variable suivant les individus allant de 50 à 200µm de longueur, corps allongé, latéralement comprimé et flexible, une vacuole contractile près de l'extrémité postérieure bien visible, deux macronucléus centraux, cils plus longs entourant la fente de la bouche donnant l'impression d'une crinière (1/3 supérieur du corps), ciliature uniquement sur un côté du corps (difficilement observable) (Canler et al., 1999).

- ***Aspidisca costata :***

Aspidisca costata est de longueur de 25 à 45µm, corps ovoïde et aplati dorso-ventralement, peu déformable, la lace dorsale possède cinq fongés très visibles, cinq cirrhes dépassent à l'arrière de l'animal, apparait globalement assez sombre à l'observation (Canler et al., 1999).

- ***Arcella sp:***

Arcella sp grand thécamébien de diamètre compris entre 30 et 250µm, thèque arrondie, transparente, de couleur orange à brune lorsqu'elle est âgée, en vue de dessus (ou au travers) ouverture de la thèque centrale, ronde et souvent marquée, pseudopodes rarement observables, les thèques vides se présentent souvent de couleur orangé (Canler et al., 1999).

- ***Paramecium sp :***

Paramecium sp corps fuselé, cylindrique et très déformable, ciliature uniforme, observation d'une longue lente oblique dans la partie antérieure de l'animal, un macronucléus, nage rapide et rectiligne en tournant sur lui-même. Espèce regroupées ici deux groupes suivant la taille des individus :

Grade paramécies (> 130µm) : *P.aurèlia*, *P.caudatum*, forme allongée, une ou deux vacuoles contractiles en formes d'étoile, touffe de long cils à l'arrière du corps pour *P.caudatum*.

Petites paramécies ($< 130\mu\text{m}$) : *P.putrinum*, *P.trichium*, corps plus ramassé, une ou deux vacuoles contractiles, touffe de longs cils à l'arrière du corps pour *P. trichium* (Canler et al., 1999).

I.7.1.2. Les bactéries :

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires, de différentes formes (sphériques, cylindriques, incurvées...), dont la taille est de l'ordre de quelques microns (de $0,5$ à $5\mu\text{m}$), à l'exception des bactéries filamenteuses de tailles souvent supérieures (de 10 à plus de $500\mu\text{m}$). Dans les boues activées, les présentes sont pour la plupart aérobies facultatives, Gram négatifs, mobiles et provenant essentiellement du sol ou des eaux. De plus, elles sont caractérisées par : Une grande surface d'échange avec le milieu extérieur, des vitesses de multiplication élevées (une division toutes les 20 minutes, dans le cas des souches traitant la pollution carbonée). Les plus lents (une division par jour) sont les bactéries autotrophes assurant la nitrification de l'azote ammoniacal et des richesses enzymatiques importantes (Canler et al., 1999).

❖ Le métabolisme bactérien :

Selon Bassompierre. (2007) les réactions de catabolisme et d'anabolisme sont très générales et sont, en fait, constituées de plusieurs réactions aboutissant à la réduction de la teneur en matière polluantes et engendrant la croissance des bactéries sans faire de distinction entre catabolisme et anabolisme. Cinq réactions principales sont répertoriées :

- **L'hydrolyse des chaînes complexes de matière organique biodégradable** : série de réactions enzymatiques extracellulaires appliquées aux substances absorbées (matières organiques colloïdales et azote organique particulaire) et qui ont lieu à la surface des microorganismes. Les molécules organiques complexes sont converties en molécules plus simples qui peuvent pénétrer dans la cellule par perméation ou transport.
- **L'oxydation de la matière organique biodégradable (croissance des bactéries hétérotrophes en phase aérobie)** : une partie des matières absorbées par les microorganismes est utilisée pour fournir l'énergie nécessaire afin d'accomplir leur fonction biologique.

- **L'ammonification** : première étape de la dégradation des déchets azotés organiques. l'azote organique est converti en ammoniacque (NH_4^+ et NH_3) par réaction chimique, cette réaction chimique est complète en milieu boues activées.
- **La nitrification (croissance des bactéries autotrophes en phase aérobie)** : en environnement aérobie, les bactéries autotrophes *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* transforment l'azote ammoniacal (NH_4^+) en présence d'oxygène pour développer et produire des nitrites (NO_2^-) puis des nitrates (NO_3^-).
- **La dénitrification (croissance de bactéries hétérotrophes en phase anoxique)** : en environnement anoxique, certaines bactéries hétérotrophes consomment les nitrates, à la place de l'oxygène, et le carbone pour développer et produire de l'azote gazeux (N_2).
- **La mort cellulaire** : une fraction des produits de mortalité est biodégradable (matière organique colloïdale ou azote organique particulaire) et entre alors dans la boucle de dégradation des composés, l'autre partie représente les résidus endogènes inertes.

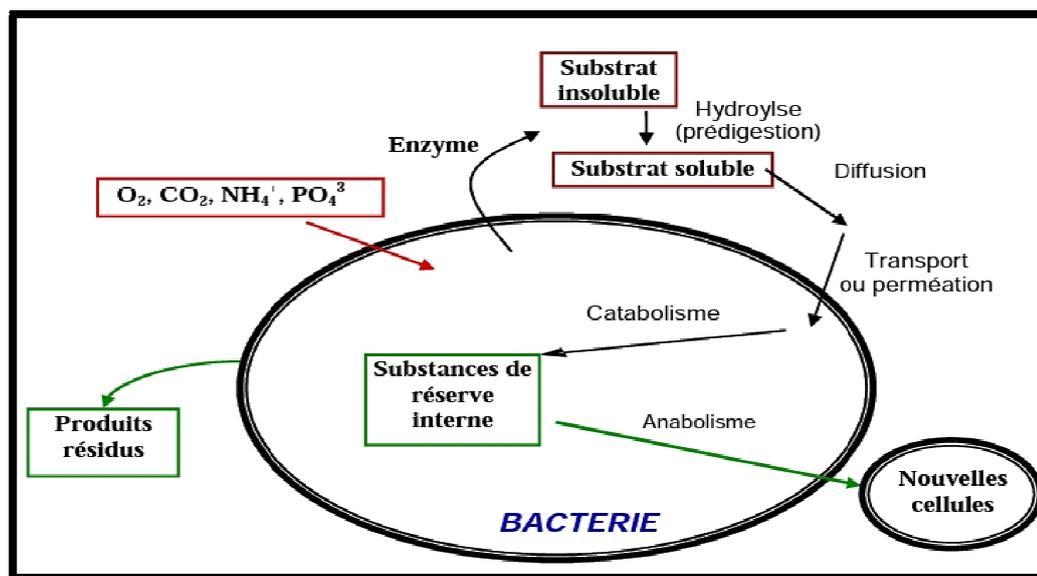


Figure 2: Métabolisme d'une bactérie hétérotrophe ou autotrophe (Bassompierre, 2007).

Il existe dans les boues activées des bactéries bénéfiques et des bactéries pathogènes :

❖ **Les bactéries responsables de l'élimination de l'azote :**

• **Les bactéries nitrifiantes :**

Les bactéries responsables de la nitrification appartiennent aux genres *Nitrosomonas* (Suwa et al, 1994) et *Nitrosococcus* (Juretschko et al, 1998) et celles responsables de la nitrification appartiennent aux genres *Nitrobacter* et *Nitrococcus*. Elles sont lithotrophes et utilisent de l'énergie dégagée pour assimiler le carbone minéral (autotrophe) sous forme de CO₂ (Pandolfi, 2006).

Les bactéries dénitrifiantes :

Les principales bactéries concernées sont : *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Thiobacillus* et *Pseudomonas*. Elles sont hétérotrophes et présentent une vitesse de croissance élevée. (Pandolfi, 2006).

❖ **Les bactéries déphosphorylantes :**

Selon Wagner. (2002) les bactéries impliquées dans la déphosphatation sont répertoriées dans la littérature en deux grandes familles :

- **Les PAO : (Polyphosphate Accumulating Organisms) :**

Ce sont des organismes capables de stocker des PHA (polyhydroxyalkanoates) en anaérobiose en utilisant de l'énergie issue de l'hydrolyse des phosphates et de consommer les orthophosphates en condition aérobie en hydrolysant les PHA. Les travaux de Seviour et al. (2003) montrent que les principales bactéries appartenant au groupe des PAO sont : *Acinetobacter* spp, β - *Proteobacteria*, *Actinobacteria* et *Rhodocyclus*.

- **Les GAO : (Glycogen Accumulating Organisms):**

Ces microorganismes peuvent consommer du glucose et stocker des PHA grâce à l'hydrolyse du glycogène. On recense de manière générale parmi ces bactéries, les *GammaProtéobactéria* et les *GammaBacteria*.

• **Les coliformes totaux :**

Sous le terme de « Coliformes totaux » est regroupé un certain nombre d'espèces bactériennes appartenant en fait à la famille des *Entérobacteriaceae*. La définition suivante a été adoptée par l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO). Le terme « Coliforme » correspond à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, facultativement

anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance, capables de fermenter le lactose et le mannitol avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35 à 37°C. Les Coliformes sont intéressants car un très grand nombre d'entre eux vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs fécaux de la première importance (**Rodier, 1996**).

Les Coliformes fécaux sont appelés aussi les Coliformes thermo-tolérants, ce sont des Coliformes qui fermentent le lactose mais à 44°C. Le genre *Escherichia coli* est le type de Coliformes fécaux d'habitat fécal exclusif, sa recherche est donc extrêmement importante (**Rodier, 1996**).

❖ Les bactéries pathogènes :

- *Escherichia coli* :

Une bactérie du genre *Escherichia* est un bacille à coloration de Gram négatif, aérobie-anaérobie facultatif, possédant une nitrate réductase et une catalase, dépourvue d'oxydase et non halophile. *Escherichia coli* est une bactérie immobile ou mobile avec structure flagellaire péritriche et non sporulée. Sa température de croissance optimale est de 37°C. Bactérie non exigeante, elle est capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole. Cette bactérie représente 80 à 90% des coliformes thermotolérants ou coliformes fécaux. *Escherichia coli* est une bactérie versatile qui comprend, à la fois, des souches commensales du tube digestif, des bactéries pathogènes et des bactéries adaptées à l'environnement (**Balière, 2017**).

- *Clostridium sulfito-réducteur* :

Clostridium sulfito-réducteur ce sont des bactéries anaérobies strictes, sporulées, Gram positif. Il est à l'origine des toxi-infections alimentaires, ce type est caractérisé par la thermorésistance (les spores résistent à une température de 100°C pendant 30min) et par un équipement enzymatique réduisant les sulfates en sulfure sur la gélose viande foie et en présence de sulfates de sodium et de alun de fer, ils sont donnés après 24 heures à 48 heures des colorations facilitant leur dénombrement. (**Dommergues, Mangenot, 1970, Pilet, 1983**).

- ***Clostridium perfringens* :**

Clostridium perfringens, bacille sulfite-réducteur, Gram positif, anaérobie stricte, a été proposé comme indicateur de la pollution fécale dès le début du siècle mais son identification laborieuse a été rapidement remplacé par le dénombrement plus aisé des spores des sulfite-réducteurs, formes de résistance se développant en anaérobiose sur gélose viande foie en donnant des colonies typiques, noires, réduisant le sulfite de sodium. Toute fois, celles-ci présentent l'inconvénient de ne pas avoir une origine exclusivement fécale. Grâce à la survie de leurs spores dans le milieu naturel, les *Clostridium* apparaissent comme des indicateurs de choix pour mesurer une pollution intermittente ou passée, ou accompagnée de rejets toxiques industriels qui inhibent rapidement les autres germes indicateurs (Cabelli, 1978).

- **Streptocoques fécaux :**

Ces bactéries appartiennent à la famille de *Stréptococcaceae* au genre *Streptococcus* et au groupe sérologique D de Lance Field. Ils sont définis comme des cocci sphériques légèrement ovales, Gram positif. Ils se disposent le plus souvent en diplocoques ou en chainettes, ils possèdent le caractère homoférmatoire avec production de l'acide lactique sans gaz (Bergey, 1984).

- **Le genre *Vibrio* :**

Le nom *Vibrio* a été utilisé dès le 17^{ème} siècle pour décrire des bactéries mobiles et de forme incurvé ou spiralée (Le Minore et Veron, 1990). Le genre *Vibrio* constitue un groupe bactérien composé de bacilles à Gram négatif non sporulés, droits ou incurvés, de 0,5 à 0,8µm de diamètre et de 1,4 à 2,6µm de longueur. Toutes les espèces du genre *Vibrio* sont mobiles au moyen d'une ciliature polaire (en milieu liquide) ou mixte, polaire-péritriche (sur milieux solides), des formes immobiles peuvent cependant être observées. Ce sont des aéro-anaérobies facultatifs, utilisant les glucides par voie fermentative et présentant une réaction d'oxydase positive (Freny et al, 1994).

- ***Vibrio cholerae* :**

Vibrio cholerae est un bacille à Gram négatif très fin (diamètre 0,5µm), habituellement incurvé en forme de virgule. Il est très mobile à l'état frais et se déplace en frétilant, en particulier au contact des bulles d'air. Il présente une ciliature polaire monotriche, qui

apparaît au microscope électronique formée d'une pièce centrale, et d'une gaine périphérique plus fragile, d'origine pariétale. Cette bactérie n'est ni capsulée ni sporulée. Toutefois il est fréquent d'observer dans les vieilles cultures la formation de corps coccoides ou de microvibrions (Le Minore et Veron, 1990).

- ***Pseudomonas aeruginosa* :**

Pseudomonas aeruginosa est un bacille Gram négatif en forme de bâtonnet, de 0,5 à 0,8µm de diamètre sur 1 à 3µm de long. Mobile grâce à un flagelle polaire généralement unique, dépourvu de spores et de capsules. La paroi du bacille pyocyanique est caractéristique de celle des bactéries à Gram négatif (Sadolff., Artenstein, 1974).

Une bactérie aérobie stricte mais capable d'utiliser les nitrates en conditions anaérobies (Souley, 2002). Elle est caractérisée par une odeur florale (Flandrois, 1997). Un milieu sélectif à base cétrimide (ammonium quaternaire) permet la recherche et l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa* (Delarras, 2007).

- ***Salmonella* :**

Le genre *Salmonella* qui appartient à la famille des entérobactéries est caractérisé par des bacilles à Gram négatif de 2 à 5µm de longueur et de 0,7 à 1,5µm de largeur (Korsak et al., 2004). Ils sont non sporulés et en générale mobiles à ciliature péritriche. Les Salmonelles possèdent un nitrate réductase et leur culture ne donne pas de réaction d'oxydase. Elles sont capables de fermenter le glucose avec ou sans production du gaz et sont aéro-anaérobies facultatives (Le Minore, 1984).

- **Les *Staphylocoques* :**

Ce sont des coques Gram positif, non capsulés, en général groupés en amas plan irréguliers (sur le plan solide). Catalase positif, aérobie facultatif donc faisant fermenter les glucides. Les *Staphylocoques* sont très répandus dans la nature ainsi que dans l'air, dans le sol ou dans l'eau. Ce sont des commensaux. Certaines espèces sont opportunistes (*Staphylocoque epidermidis*, *Staphylocoque saprophyteus*). D'autres peuvent être occasionnellement pathogène (*Staphylocoque aureus*) (Pilet, 1983).

I.8. Présentation de la société SEAAL :

La Société des Eaux d'Assainissement d'Alger (SEAAL), est une société publique par actions, détenue à 70% par l'Algérienne des Eaux (ADE) et à 30% par l'Office National de l'Assainissement (ONA). La principale mission de SEAAL est de produire et de desservir en eau potable les wilayas d'Alger et de Tipaza, et de collecter et traiter les eaux usées au niveau de ces des périmètres. Elle dessert ainsi 3,8 millions d'habitats soit environ 10% de la population nationale (**anonyme, 2016**).

I.9. Description de la STEP de Baraki :

La station d'épuration de Baraki est de type boues activées à aération moyenne avec une capacité nominale de 9000000 équivalents habitant. Elle s'étend actuellement sur une superficie de 10 Km, elle est dimensionnée pour recevoir une quantité d'eau usée estimée à 150000 m³/j (figure 3). Le bassin de traitement reçoit les eaux domestiques évacuées de la station de pompage d'El -Harrach 70%, et 30% qui arrivent gravitairement dans un collecteur de Baba Ali. Le tiers de débit et d'origine industrielle, le reste est d'origine domestique (**Lazili, 2002**).

La STEP de Baraki comporte les filières suivantes :

A/ Filière de traitement des eaux :

- Relèvement par vis d'Archimède en deux étages (2X3).
- Dégrillage automatique vertical en deux files équipées chacune d'une grille grossière et d'une fine.
- Dessablage / déshuilage combiné aéré en deux files.
- Deux décanteurs primaires circulaires.
- Deux bassins d'aération à insufflation d'air avec mélangeurs POLCON (figure 4).
- Quatre clarificateurs circulaires avec recirculation des boues par vis d'Archimède (figure 5).
- Un bassin de chloration pour la désinfection des eaux traitées en cas de besoin pour l'agriculture (**Lazili, 2002**).

B/ Filière de traitement des boues :

- Deux épaisseurs raclés recueillant les boues primaires et les boues en excès du traitement biologique.
- Deux digesteurs primaires et un digesteur secondaire, brassés et chauffés.
- Un gazomètre pour stockage des gaz de digestion.

- Une déshydratation mécanique des boues par filtres-presses avec conditionnement préalable des boues au FeCl_3 et à chaux.
- Deux sécheurs rotatifs.

La qualité des eaux épurées et des boues est en fonction de leur destination finale à savoir :

a) Pour les eaux :

- Le rejet des eaux dans l'Oued El-Harrach pour sa régénération.
- La réutilisation en irrigation.

b) Pour les boues :

- La réduction de leur volume pour limiter les coûts de transport.
- La stabilisation des boues a fin d'assurer la suppression des risques de développement des nuisances sur les sites d'évacuation.
- La valorisation des boues en agriculture (**Lazili, 2002**).



Figure 4: Un bassin d'aération de STEP de Baraki (photo original)



Figure 5 : Un clarificateur circulaire de STEP de Baraki (photo original)

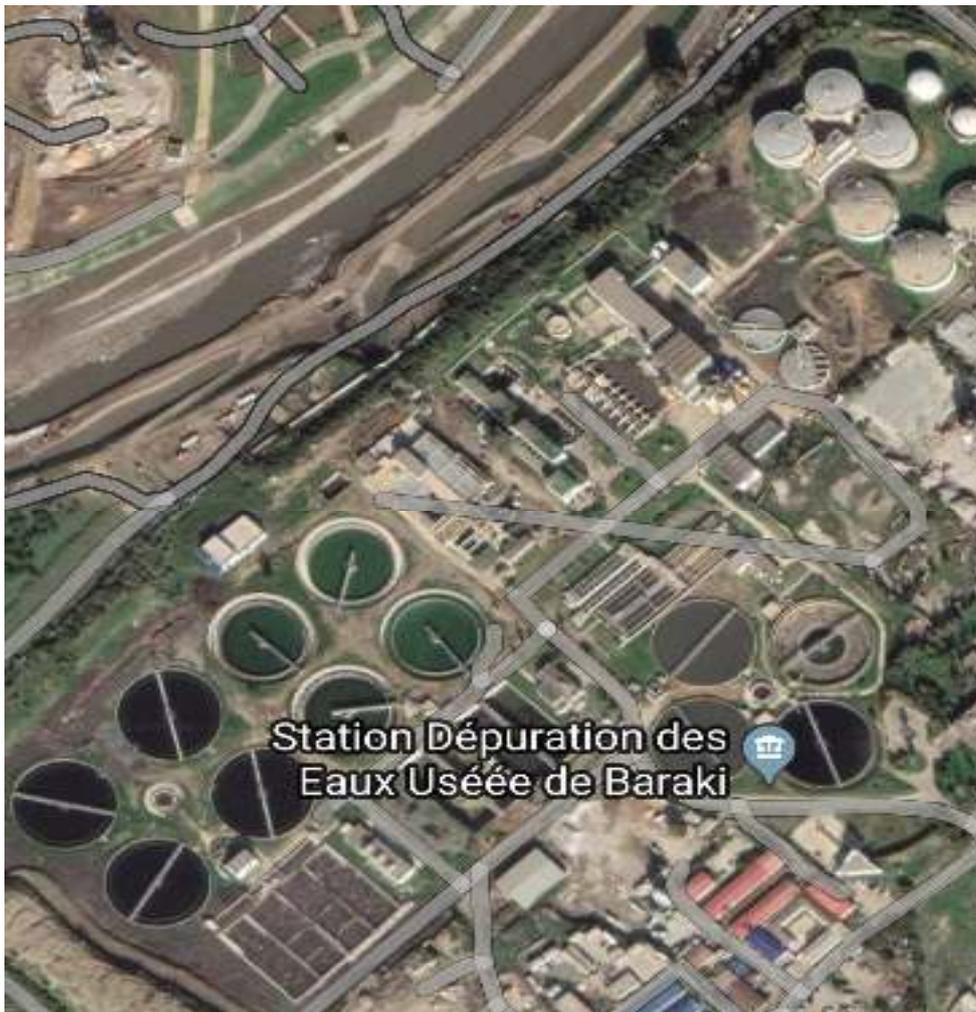


Figure 3 : Localisation de l'unité de traitement de Baraki

Actuellement en Algérie, c'est une des rares stations à faire fonctionner ses chaudières par son propre biogaz, c'est une expérience très intéressante de l'Algérie vers le développement des énergies renouvelables à partir du traitement et valorisation des eaux usées.

La présente étude a été réalisée afin d'analyser les caractéristiques physico-chimiques, microscopiques et bactériologiques des boues activées dans la station d'épuration de Baraki durant une période de 3 mois allant de Février jusqu'au mois d'Avril 2019. Le laboratoire de la STEP de Baraki était le siège des analyses physico-chimiques et microscopiques et le laboratoire de bactériologie des aliments, eaux et l'environnement de l'Institut Pasteur d'Algérie était le lieu des analyses bactériologiques.

II.1. Matériel :

- ❖ **Matériel biologique** : le matériel biologique est représenté par les boues activées et l'eau usée de la sortie de la STEP de Baraki.
 - Boues activées : 50 prélèvements.
 - L'eau de sortie : 4 prélèvements.

Tableau II : Nature et nombre de prélèvements.

Nature de prélèvements	Février	Mars	Avril
Boues activées (bassin C)	2	11	12
Boues activées (bassin D)	2	11	12
Eau de sortie	0	2	2

- ❖ **Matériel non biologique** : représenté par les appareillages, la verrerie et les milieux de culture (voir Annexe I).

II.2. Méthodes :

II.2.1. Prélèvement et transport des échantillons :

- ❖ **Points des prélèvements** :

Au cours de notre étude, le prélèvement s'est fait dans trois points différents de la STEP de Baraki.

- **Premier point** : prélèvement de boue activée de bassin d'aération C de la STEP.
- **Deuxième point** : prélèvement de boue activée de bassin d'aération D de la STEP.
- **Troisième point** : prélèvement de l'eau de sortie de la STEP.

❖ Transport des échantillons :

Les échantillons pour les analyses physico-chimiques et l'observation microscopique des boues activées sont prélevés à l'aide d'un préleveur de la STEP dans des flacons de polyéthylène de 1 litre et sont transportés immédiatement après prélèvement, au laboratoire de la STEP de Baraki.

Les échantillons pour les analyses bactériologiques sont prélevés dans des flacons stériles de 1 litre, et ils sont ensuite transportés dans une glacière maintenue à une température de 4°C jusqu'au laboratoire de bactériologie des aliments, des eaux et de l'environnement de l'Institut Pasteur d'Algérie.

II. 3. Observation microscopique de la microfaune des boues activées :

L'examen microscopique des boues activées se fait Selon la norme : AS06.MO08.

- Mélanger un échantillon de boue activée.
- Pipeter une goutte de l'échantillon.
- Etaler une goutte de la suspension entre lame et lamelle.
- Faire une observation microscopique par un microscope photonique.
- Identifier les différents microorganismes existants en se basant sur la notice (aide et diagnostic des stations d'épuration par l'observation microscopique des boues activées).

II.4. Les Analyses physico-chimiques des boues activées :**II.4.1. Détermination de la matière en suspension :**

La détermination des MES se fait par centrifugation selon la norme : NF T90-105-2

Mode opératoire :

- Attendre jusqu'à ce que les échantillons soient à température ambiante.
- Homogénéiser le contenu du flacon, en l'agitant.
- Si cela est possible, introduire la totalité de l'échantillon dans le pot de la centrifugeuse et centrifuger à 4000 tr/min durant environ 20min. éliminer alors la phase claire et recueillir le dépôt (pour récupérer le reste du dépôt, utiliser un minimum d'eau distillée). Le volume de cet échantillon doit être tel qu'il conduise à la pesée d'au moins 30min de matières en suspension.

- Si le volume d'échantillon nécessaire à la mesure excède la capacité du pot, opérer en plusieurs fois en récupérant à chaque fois le dépôt constitué, jusqu'à avoir centrifugé le volume requis.
- Sécher le creuset vide à 105°C, le passer au dessiccateur puis le repeser (masse M₀).
- Mettre le dépôt dans le creuset, sécher le tout à 105°C pendant 2 heures. passer au dessiccateur et peser.
- Calculer la teneur en suspension d'après l'expression :

$$P = (M_1 - M_0) \times 1000/V$$

P : teneur en matières en suspension, en milligrammes par litre.

V : volume, en millilitres de la prise d'essai.

M₀ : masse en milligrammes du creuset vide.

M₁ : masse en milligrammes du creuset et de son contenu après séchage à 105°C et dessiccation.

II.4.2. Détermination de l'indice de boue et l'indice de Mohlman :

La détermination de l'indice de boue et l'indice de Mohlman selon la norme : AS06.MO12

Mode opératoire :

- Prélever un échantillon de boue de 2000 ml à partir du bassin d'aération.
- Bien mélanger l'échantillon de boue et verser dans une éprouvette de 1000 ml.
- Régler le chronomètre à 30 minutes.
- Noter le volume de boue V₃₀, une fois le temps écoulé.
- Calculer l'indice de Mohlman et l'indice de boue :

$$I_B = \frac{V_{30}(\text{avec dilution})}{MES} \times \text{Facteur de dilution}$$

$$I_M = \frac{V_{30}}{MES}$$

I_B : l'indice de boue.

I_M : l'indice de Mohlman.

II.4.3. Détermination de la matière volatile en suspension :

La détermination de la matière volatile en suspension selon la norme : AS06.MO11

Mode opératoire :

- Prendre le creuset qui a servi à l'analyse des MES après séchage et à 105°C et dessiccation ;
- Placer ce creuset avec les matières sèches dans le four à 550°C pendant au moins 60 minutes.
- Refroidir le creuset au dessiccateur.
- Effectuer la pesée.
- Calculer la perte au feu W% :

$$W(\%) = \frac{(P_s - P_c)}{(P_s - P_v)} \times 100$$

W (MVS) : perte au feu de la matière sèche d'une boue en pour cent.

Ps : poids du creuset et de la matière sèche, en gramme.

Pc : poids du creuset de la matière sèche calcinée, en gramme.

Pv : poids du creuset vide, en gramme.

II.5. Les Analyses bactériologiques des boues activées et de l'eau de sortie :

Avant de réaliser les analyses bactériologiques des boues activées, nous avons effectués une dilution de deux fois (750 ml de boue activée + 750 ml de l'eau distillé) 1/2.

II.5.1. Méthode de filtration sur membrane :

Se fait à l'aide d'une rampe de filtration lié à une pompe (**voir annexe I**) selon les étapes suivantes :

- Préparer une zone stérile (à l'aide du bec bunsen)
- Placer autour du bec Bunsen les boîtes des milieux de culture préparée préalablement
- Stériliser la face supérieure (la plaque poreuse) et les entonnoirs de l'appareil à l'aide de bec Bunsen.
- Procéder à un refroidissement avec de l'eau distillé stérile
- Placer la membrane stérile (membrane de 0,45um) sur le système de filtration avec une pince flamber et refroidie.
- Agiter le flacon par retournement.
- Verser le volume nécessaire de l'échantillon pour chaque paramètre

II.5.2. Ensemencement :

Mise en culture en zone stérile.

- Retirer la membrane avec la pince.
- Déposer la membrane sur la gélose.
- Les éléments nutritifs de la gélose traversant la membrane, ce qui permet le développement des bactéries en surface.

II.5.3. Recherche des bactéries pathogènes :

La recherche et la détermination de la présence ou de l'absence des microorganismes dans les prélèvements des boues activées ont été effectuées selon les normes ISO suivantes :

II.5.3.1. La recherche des Coliformes totaux et fécaux :

La recherche des bactéries coliformes et d'*Escherichia coli* est réalisée par méthode de filtration sur membrane selon la norme : ISO 9308-1 sur les milieux spécifiques ; gélose lactose au TTC et Tergitol (base), gélose Heckteon, l'eau peptone exempte d'indole.

Mode opératoire :**Jour 1 : filtration**

- Filtration de 100 ml de l'échantillon sur une membrane retenant les bactéries.
- Cette membrane est placée sur un milieu de culture sélectif gélosé lactosé (TTC et tergitole), incubé à (36 +/-2°C) pendant (21+/-3h)

Jour 2 : lecture

- Comptage des colonies caractéristiques présentes sur la membrane comme étant des bactéries lactose-positives.
- Pour les bactéries coliformes et les *E. coli*, repiquage de colonies caractéristiques choisies aléatoirement pour essais de confirmation: oxydase et production d'indole.

Jour 3 : confirmation

- Pour les essais de l'oxydase et de l'indole, repiquer les colonies typiques obtenues respectivement sur gélose non sélective GN et dans un bouillon au tryptophane.

Jour 4 :

- Considérer toutes les colonies ayant une réaction négative à l'oxydase comme étant des bactéries coliformes.
- Considérer toutes les colonies ayant une réaction négative à l'oxydase, mais positive à l'indole, comme étant des *E. coli*.

II.3.5.2. La recherche des Stréptocoques fécaux :

La recherche des Stréptocoques fécaux est réalisée par la méthode de filtration sur membrane selon la norme : ISO/FDIS 7899-2 sur les milieux spécifiques ; gélose Slanetz et Bartley, gélose à l'Esculine (BEA).

Mode opératoire :**Jour 1 : filtration**

- Filtration de 100 ml de l'échantillon sur une membrane retenant les bactéries.
- Cette membrane est placée sur un milieu de culture sélectif Slanetz et Bartley incubé à 37°C pendant 48h.

Jour 2 : lecture et confirmation

- Après incubation, considérer comme typiques toutes les colonies bombées montrant une couleur rouge, marron ou rose, soit au centre soit sur l'ensemble de la colonie.
- S'il y a des colonies typiques, transférer la membrane et les colonies, au moyen de pinces stériles, sans retournement, sur une boîte de gélose bile-esculine-azoture.
- Les Streptocoques fécaux hydrolysent l'esculine sur ce milieu en 2 h
 - Considérer toutes les colonies typiques montrant une couleur brune à noire dans le milieu environnant comme donnant une réaction positive, et les compter comme Streptocoques fécaux.

II.3.5.3. La recherche des Anaérobies *sulfuto-reductrices* :

La recherche des Anaérobies *sulfuto-reductrices* est réalisée selon les normes : ISO 15188 : 2012, ISO 8199 : 2005 sur les milieux spécifiques ; milieu gélose viande foie

Mode opératoire :

- Remplir 20 ml d'échantillon dans 4 tubes.
- Rajouter par incorporation la VF
- Laisser solidifier sur la paillasse, puis incuber à 37°C pendant 48 h.
- Après 48h on considère les colonies noires comme colonie positif

II.3.5.4. La recherche de *Pseudomonas aeruginosa* :

La recherche de *Pseudomonas aeruginosa* est réalisée par la méthode de filtration sur membrane selon la norme : ISO 6222 sur les milieux spécifiques : Gélose Cétrimide, gélose nutritif.

Mode opératoire :

Jour 1 : filtration

- Filtration de 100 ml de l'échantillon sur une membrane retenant les bactéries.
- Cette membrane est placée sur un milieu de culture sélectif cétrimide incubé à 37°C pendant 48.

Jour 2 : lecture

- Après incubation, considérer comme typiques toutes les colonies lisses et brillantes avec une couleur blanc crème et un aspect muqueux.
- Repiquage des colonies caractéristiques sur la gélose GN, incubé à 37°C pendant 24heurs.

Jour 3 : confirmation

Procéder a une identification biochimique par l'utilisation de la galerie Api₂₀ NE (non entérobactérie)

Le principe :

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correctement.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification.

II.3.5.5. La recherche de *Staphylocoque aureus* :

La recherche de *Staphylocoque aureus* est réalisée par la méthode de filtration sur membrane selon la norme : ISO 6222 sur les milieux spécifiques : Gélose de Chapman, bouillon cœur cerveau (BHIB).

Mode opératoire :**Jour 1 : filtration**

- Filtration de 100 ml de l'échantillon sur une membrane retenant les bactéries.
- Cette membrane est placée sur un milieu de culture sélectif Chapman incubé à 37°C pendant 48heurs.

Jour 2 : lecture

- Après incubation, considérer comme typiques toutes les colonies jaunes dorés et mannitol +
- Purification si nécessaire sur Chapman

Jour 3 : confirmation

- **Test d'oxydase :**
À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une partie d'une colonie suspecte qu'on dépose sur une plaque d'oxydase Dry Slide la lecture est immédiate. (Oxydase positive : couleur violet, oxydase négatives : absence de coloration).

- **Teste de la catalase :**

Déposer une goutte d'eau oxygénée sur une lame, à l'aide d'une pipette Pasteur déposer une colonie isolée de la souche à tester, observation de la formation des bulles indique une réponse positive.

- Préparer une suspension bactérienne dans un bouillon nutritif BHIB pour tester la coagulase après incubation à 37 pendant 24heurs.

Jour 4 :

- **Teste de coagulase :**

- Après incubation du bouillon BHIB
- Préparation du plasma de lapin
- Prendre 0,5 ml de BHIB et ajouter 0,5 ml de plasma de lapin dans des tubes de canne.
- Incuber les tubes de canne à 44 et vérifier la coagulase chaque 2heurs.

Jour 5 :

La présence de *Staphylococcus aureus* est indiquée par : la coagulation du plasma.

II.4.6.6. La recherche de *Vibrio cholerae*:

La recherche de *Vibrio cholerae* est réalisée selon la norme : ISO/TS 21872-1 sur les milieux spécifiques ; l'eau peptone alcaline, gélose GNAB, gélose Kligler-Hajna (KIA).

Mode opératoire :**Jour 1 : Le 1^{er} enrichissement**

- Ajouter 450 ml d'échantillon à 50 ml d'eau peptone alcaline.
- Incuber à 37°C pendant 6heurs.

Jour 2 : Le 2^{ème} enrichissement

- Ajouter 1ml d'EPA (1^{er} enrichissement) à 10ml d'EPA (2^{ème} enrichissement), Incuber à 41.5°C pendant 18+/-1heurs.
- À partir de voile formé, effectuer un premier isolement sur GNAB, incuber à 37°C pendant 24+/-3heurs.

Jour 3 : lecture

- Après incubation, considérer comme typiques toutes les colonies lisses transparentes (sous forme de goutte d'eau) puis ensemencée sur KIA tube.
- Ensemencer les colonies typiques sur KIA, incubé à 37°C pendant 24+/-3h
- A partir de 2^{ème} enrichissement sur EPA tube effectuer un 2^{ème} isolement sur GNAB, incubé à 37°C pendant 24+/-3h

Jour 4 : confirmation

La présence de *Vibrio cholerae* est indiquée par :

- Culot jaune (glucose positif), ponte rouge (saccharose positif).

Pour la confirmation de *Vibrio cholerae* :

- **Test d'oxydase:** (le même mode opératoire cité précédemment pour les Staphylocoques)
- Préparation de la galerie API20 E ou API 20 NE

Le principe :

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages de couleurs spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification.

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correctement.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification.

- **Agglutination** : une goutte d'eau physiologique + une colonie de milieu KIA et une goutte de sérum agglutinant OGAWA-INABA + une colonie de milieu KIA

II.4.6.7. La recherche de *Salmonella* :

La recherche de *Salmonella* est réalisée selon la norme : ISO 19250 sur les milieux spécifiques : L'eau peptone tamponne, Bouillon SFB, Gélose Hektoen, Gélose TSI.

Mode opératoire :

Jour 1 : Le pré-enrichissement

- Filtration de 500 ml de l'échantillon sur une membrane retenant les bactéries.
- Cette membrane est placée dans le flacon d'EPT, incubé à 37°C pendant 24h.
- Le volume filtré est de 500 ml

Jour 2 : L'enrichissement

- ajouter 0,1 ml de pré-enrichissement et un disque additif à 10 ml de milieu SFB.
- Incuber à 37°C pendant 24 h.

Jour 3 :

- A partir de tube SFB on effectue un isolement sur Hektoen.
- Incuber à 37°C pendant 24 h.

Jour 4 : confirmation

- Après incubation, considérer comme typiques toutes les colonies vertes à centre noir.
- Ensemencer les colonies typiques sur TSI.
- Incuber à 37°C pendant 24h.

Jour 5 :

La présence de *Salmonella* est indiquée par :

- Glucose (jaune), lactose (rose), gaz négatif, H₂S négatif, présence des points noirs qui indiquent la présence de sulfate ferreux.

III. Résultats et discussion :

III.1. Observation microscopique de la microfaune des boues activées :

L'examen microscopique des boues activées permet d'identifier 6 espèces de protozoaires et une espèce de métazoaire à l'aide d'un microscope optique à (G : 40X).

III.1.1. Les protozoaires :

Les espèces de protozoaires sont : *Zoothamnium pygmaeum*, *Vorticelles à pédoncule long*, *Litonotus*, *Aspidisca costata*, *Arcella*, *Paramecium*. Les caractéristiques des protozoaires sont décrites selon **Canler et al. (1999)**.

III.1.1.1 *Arcella* sp :

Arcella est un grand thécamébien de diamètre compris entre 30 et 250 μ m, thèque arrondie, transparente, de couleur orange à brune lorsqu'elle est âgée, les thèques vides se présentent souvent de couleur orangé (figure 6)

La présence d'*Arcella* est un témoin d'une installation fonctionnant dans le domaine de la faible charge ou de l'aération prolongée, bonnes performances en nitrification d'où un bon degré d'aération. Population également fréquente sur des installations traitant des effluents d'industries agro-alimentaires (industrie de la viande notamment) (**Canler et al, 1999**).



Figure 6 : Observation microscopique d'*Arcella* sp (G : 40X).

III.1.1.2. *Litonotus* sp :

Litonotus sp présente une taille variable suivant les individus allant de 50 à 200 μ m de longueur, corps allongé, latéralement comprimé et flexible, une vacuole contractile près de l'extrémité postérieure bien visible, deux macronucléus centraux, cils plus longs entourant la fente de la bouche (figure 7)

Litonotus est une espèce préférentiel des stations fonctionnant en moyenne charge. Elle est non permanente, indicatrice d'une phase transitoire de traitement (**Canler et al, 1999**).



Figure 7 : Observation microscopique de *Litonotus* sp (G : 40 X).

III.1.1.3. *Paramecium* sp :

Le corps de *Paramecium* sp est fuselé, cylindrique et très déformable, ciliature uniforme, observation d'une longue lente oblique dans la partie antérieure de l'animal, un macronucléus, nage rapide et rectiligne en tournant sur lui-même (figure 8).

La présence de *Paramecium* est souvent liée à une phase transitoire. Les petites *paramécies* rencontrent sur des installations dont la charge massique est plus élevée avec une aération suffisante, la qualité du traitement est plus limitée (Canler et al, 1999).



Figure 8: Observation microscopique de *Paramecium* sp(G : 40X).

III.1.1.4. *Vorticelle à pédoncule long* :

Vorticelle à pédoncule long est une grande vorticelle de 60 à 120µm de long, forme solitaire, corps en forme de « cloche », présence d'un myonème (donc rétractile), couronne de cils large, un long macronucléus de forme variée (figure 9).

La présence de *Vorticelle à pédoncule long* n'est pas liée à un domaine de charge particulier. Ces espèces sont relativement fragiles à l'apport de produits toxiques et à un manque d'oxygénation. On les observe sur des installations où l'oxygène est donc plutôt présent en permanence. C'est un indicateur d'une efficacité épuratrice correcte. D'une manière générale, la longueur du pédoncule est en relation avec le degré de traitement : plus le pédoncule est long, plus le traitement est meilleur (Canler et al, 1999).



Figure 9 : Observation microscopique de *Vorticelle à pédoncule long* (G : 40X).

III.1.1.5. *Zoothamnium pygmaeum* :

La longueur du corps de *Zoothamnium pygmaeum* est de 80µm, plusieurs individus par pédoncule, corps en forme de « cloche » ciliature buccale large, pédoncule avec myonème continu au niveau des embranchements (tous les individus se contractent ainsi simultanément), macronucléus allongé situé verticalement à la périphérie du corps, une vacuole contractile près de la cavité buccale (figure 10).

Zoothamnium pygmaeum est un indicateur de faible charge, présent sur des installations aux conditions de fonctionnement stables et d'une bonne capacité épuratrice au niveau de la pollution carbonée, aération permanente. Indicateur d'effluent traité de bonne à très bonne qualité (Canler et al, 1999).



Figure 10: Observation microscopique de *Zoothamnium pygmaeum* (G : 40X).

III.1.1.6. *Aspidisca costata* :

Aspidisca costata est de longueur de 25 à 45µm, corps ovoïde et aplati dorso-ventralement, peu déformable, la face dorsale possède cinq fongés très visibles, on vue de dessus, cinq cirrhes dépassent à l'arrière de l'animal, apparait globalement assez sombre à l'observation (figure 11).

Aspidisca costata est très fréquemment rencontré et pouvant être la faune dominante, il est présent sur tous les types de boues activées au fonctionnement stable. Son abondance est généralement liée à une forte charge. C'est un animal relativement résistant à une sous-aération, aux toxiques ou effluents à traiter spéciaux. Sa présence ne donne aucune indication sur la qualité du traitement (Canler et al, 1999).



Figure 11 : Observation microscopique d'*Aspidisca costata* (G : 40X).

III.1.2. Les métazoaires :

III.1.2.1. Rotifères *Digononta* :

Rotifères *Digononta*, est de taille comprise entre 100 et 250um, corps télescopique, présence de deux couronnes ciliaires adjacentes à l'extrémité antérieure (forme « de roues », très visible lorsque l'animal est à l'arrêt), pied composé d'un à plusieurs articles suivant la famille, animal mobile (nage, reptation) (figure 12).

Rotifères Digononta est très fréquent dans les boues activées, passagèrement sur des installations sous-chargées. Présent dans des boues de faible charge et l'âge élevé (15 jours au minimum), quel que soit le degré de traitement de l'installation (Canler et al, 1999).



Figure 12 : Observation microscopique de *Digononta* (G :40X).

III.2. Les analyses physico-chimiques des boues activées :

III.2.1. Matières en suspension (MES) :

Les résultats des analyses des MES effectuées sur les boues activées sont représentés dans la figure 13. Les teneurs des MES dans les bassins d'aération oscillent entre 2,2 et 6,3 g/l pour le bassin C et pour le bassin D les valeurs sont variables entre 2,2 et 6,1 g/l.

D'après les résultats obtenus on peut constater que la charge des MES dans les deux bassins pour les prélèvements de mois de Février et mois de Mars (P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8), est conforme au seuil fixé par le manuel d'exploitation de la STEP qui varie entre 2 et 4 g/l. se qui indique un bon fonctionnement de la STEP.

Par contre la charge des MES dans les deux bassins pour les prélèvements (P9, P10) est supérieur au seuil fixé par le manuel d'exploitation cette augmentation dépend à l'origine des eaux (les rejets industrielles qui contient parfois des substances chimiques toxiques).

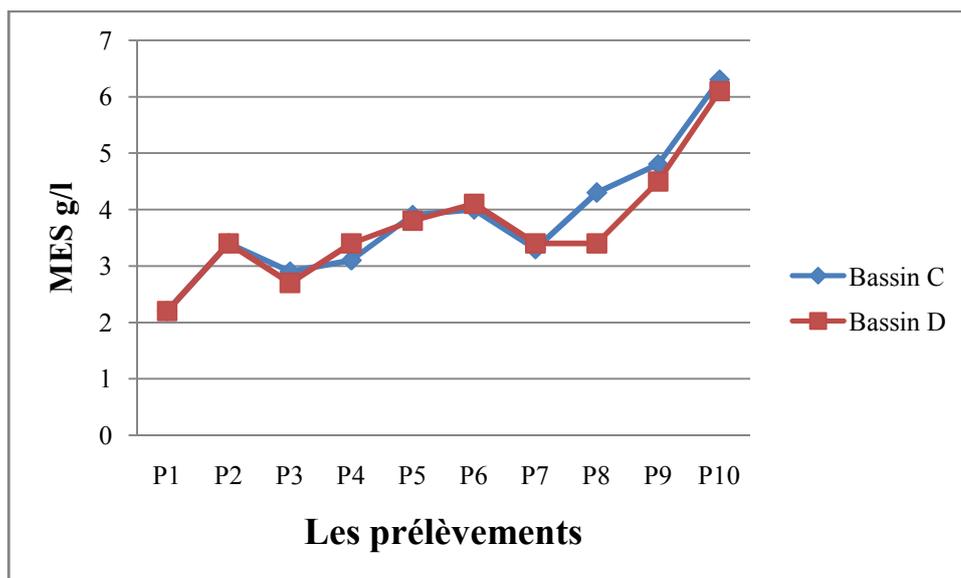


Figure 13 : Variation de MES du bassin d'aération (C et D) de la STEP de Baraki (période du 10 Février au 8 Avril 2019).

- Du P1 au P2 : mois du Février.
- Du P3 au P8 : mois du Mars.
- Du P8 au P10 : mois du Avril.

III.2.2. Indice des boues (IB) ou indice de Mohlman (IM) :

Les résultats des analyses de l'indice des boues ou indice de Mohlman effectuées sur les boues activées représentés dans la figure 14. Les valeurs de (IM) oscillent entre 80 et 420 ml/g pour les deux bassins. Pour une boue qui décante bien, l'indice de Mohlman doit être inférieur à 200 ml/g.

Les résultats des tests de décantation en éprouvette (indice de boue), montrent que pour les deux mois de Février et Mars 2019, toutes les valeurs trouvées sont inférieures à la valeur fixé par le manuel d'exploitation de la STEP avec des valeurs varient de 80 à 180 ml/g. Cependant, pour le mois d'Avril les valeurs sont supérieures à 200ml/g, ce qui indique la présence des bactéries filamenteuses qui perturbent les propriétés de décantation de la boue (indice de boue élevé supérieur à 200 ml/g) (Degremont, 2005). Et une mauvaise décantation dans les décanteurs secondaires.

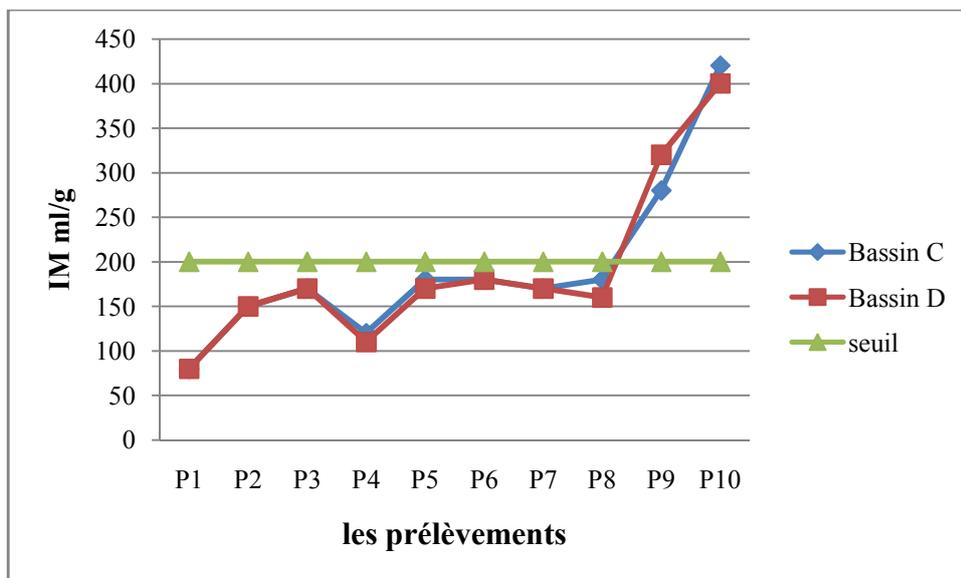


Figure 14 : Variation de l'indice de boue (IB) du bassin d'aération (C et D) de la STEP de Baraki (période du 10 Février au 8 Avril 2019).

- Du P1 au P2 : mois du Février.
- Du P3 au P8 : mois du Mars.
- Du P8 au P10 : mois du Avril.

III.2.3. Matière volatile en suspension (MVS) :

Les résultats des analyses des MES effectuées sur les boues activées représentés dans la figure 15. Les teneurs des MVS dans les bassins d'aérations oscillent entre 45 et 58% pour les deux bassins.

D'après les résultats obtenus on peut constater que les valeurs trouvées pour les prélèvements (P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9) de bassin C et de bassin D sont conforme au seuil fixé par le manuel d'exploitation de la STEP qu'est entre 50% et 60%, pour le prélèvement P1 des deux bassin le valeur trouvée est inférieur au seuil fixé par le manuel d'exploitation de la STEP. Ces résultats indiquent un bon fonctionnement de la STEP de Baraki.

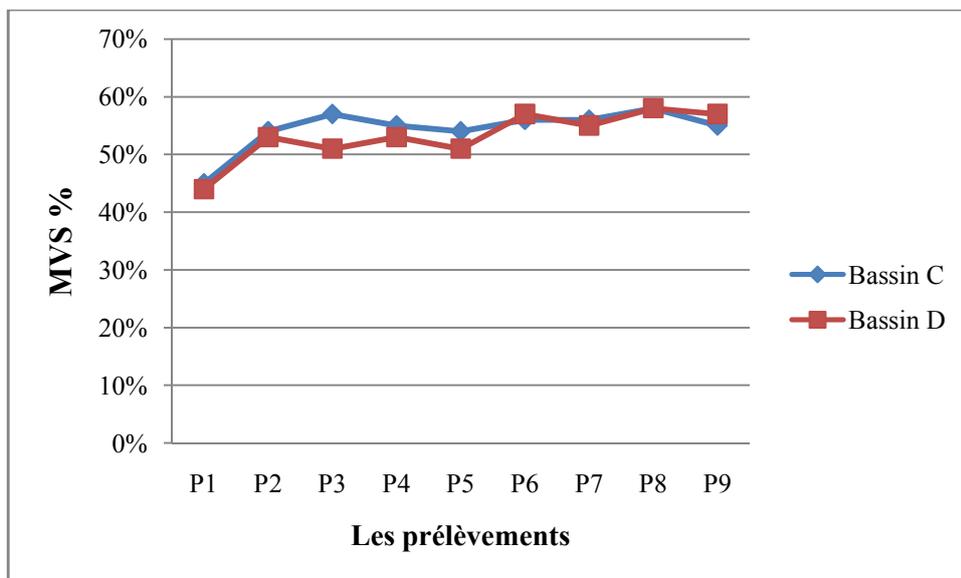


Figure 15 : Variation de MVS du bassin d'aération (C et D) de la STEP de Baraki (période du 10 Février au 8 Avril 2019).

- Du P1 au P2 : mois du Février.
- Du P3 au P8 : mois du Mars.
- Du P8 au P10 : mois du Avril.

III.3. Les analyses bactériologiques des boues activées et de l'eau de sortie :

Les résultats obtenus sont basés sur l'observation macroscopique et l'utilisation des tests biochimiques pour d'identifier les souches isolées à partir des prélèvements.

III.3.1. Identification des coliformes totaux et fécaux :

III.3.1.1. Etude macroscopique :

Sur gélose TTC et Tergitole toutes les boites présentent une nappe de colonies jaunes et rouges ≥ 150 colonies (figure 16), et sur gélose Héckteon toutes les boites présentent différents colonies jaunes lactose positif (figure 17)



Figure 16 : Aspect des Coliformes sur TTC et Tergitol.

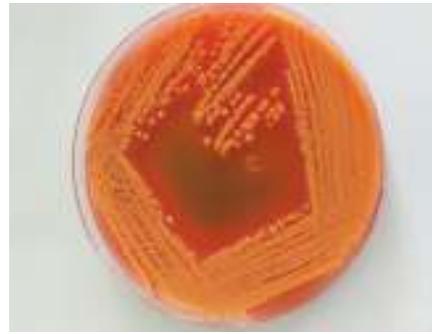


Figure 17 : Aspect des Coliformes sur Héckteon .

III.3.1.2. Etude biochimique :

❖ Test d'oxydase et d'indole :

La présence de 35 souches Indole positif (halo rouge/rose) (figure 18) et oxydase négatif (couleur violacée sur la plaque de l'oxydase) (figure 19).



Figure 18 : formation d'un halo rose dans l'eau peptone exempte d'indole d'une souche *E.coli*.



Figure 19 : Oxydase d'une souche d'*E. coli*.

Sur les 54 échantillons analysés, 35 souches d'*E.Coli* ont été identifiées réparties comme suit :

- Dans le bassin d'aération C 19 souches.
- Dans le bassin d'aération D 14 souches.
- Dans l'eau de sortie 2 souches.

Tableau III : Nature des prélèvements et nombre des souches d'*E.Coli*

Nature de prélèvement	Nombres des souches	Pourcentage
Boues activées (bassin C)	19	54,28%
Boues activées (bassin D)	14	40%
Eau de sortie	2	5,71%
Total	35	100%

La figure 20 montre la prédominance d'*E.coli* dans le bassin d'aération C avec un pourcentage de (54,28%) suivi par le bassin d'aération D (40%) et l'eau de sortie (5,71 %)

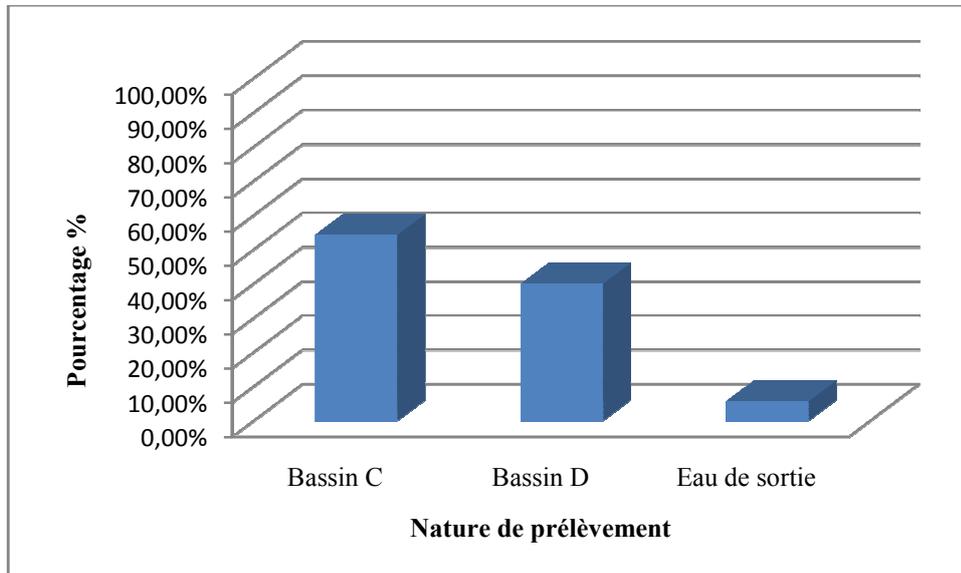


Figure 20 : Identification d'*E.coli* dans les différents prélèvements.

III.3.2. Identification des Streptocoques fécaux :

III.3.2.1. Etude macroscopique :

Sur gélose de Slanetz et Bartley toutes les boites présentent une nappe de colonies roses ≥ 150 colonies (figure 21).



Figure 21 : Aspect des Streptocoques fécaux sur Slanetz et Bartley.

III.3.2.2. Etude biochimique :

Sur gélose BEA toutes les boîtes présentent une pigmentation noire, Esculine positive (figure 22).



Figure 22 : Aspect des Streptocoques fécaux du groupe D sur BEA.

Sur les 54 échantillons analysés, 54 souches de *Streptocoque fécaux* ont été identifiées réparties comme suit :

- Dans le bassin d'aération C 25 souches.
- Dans le bassin d'aération D 25 souches.
- Dans l'eau de sortie 4 souches.

Tableau IV : nature de prélèvement et nombre des souches de Streptocoque fécaux

Nature de prélèvement	Nombres des souches	pourcentage
Boues activées (bassin C)	25	46,29%
Boues activées (bassin D)	25	46,29%
Eau de sortie	4	7,40%
Total	54	100%

La figure 23 montre la prédominance des *Streptocoques fécaux* dans le bassin d'aération C et D sont égaux avec un pourcentage de (46,29%) suivi par l'eau de sortie (7,40%).

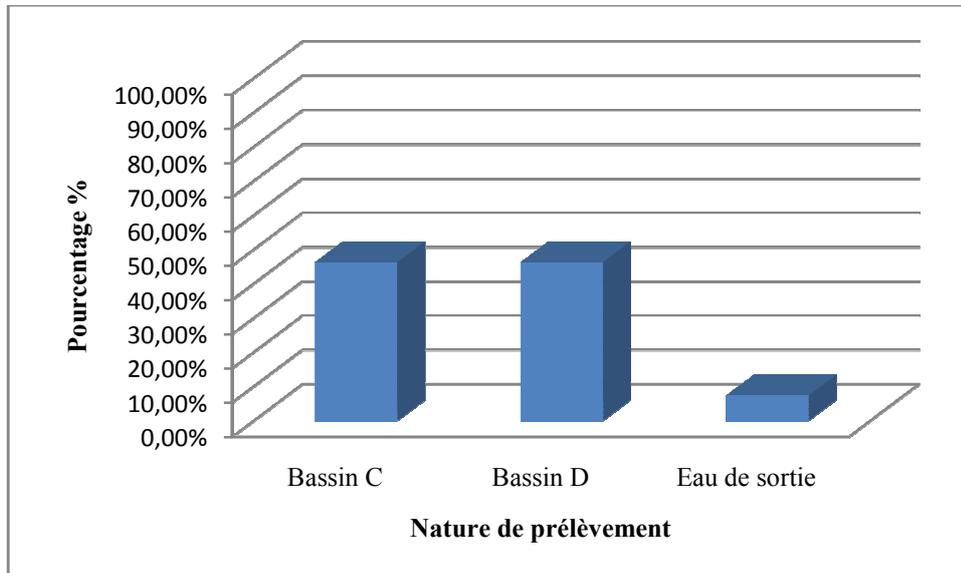


Figure 23 : Identification des Streptocoques fécaux dans les différents prélèvements.

III.3.3. Identification des Anaérobies Sulfito-Reducteurs :

III.3.3.1. Etude macroscopique :

Sur tous les prélèvements analysés les colonies des ASR sont représentés par des colonies noires (figure 24). Les colonies suspectes ont été identifiées et les résultats montrent la présence des *Clostridium perfringens*.



Figure 24 : Aspect des ASR sur gélose viande foie.

Sur les 54 échantillons analysés, 54 souches des ASR ont été identifiées réparties comme suit :

- Dans le bassin d'aération C 25 souches.
- Dans le bassin d'aération D 25 souches.
- Dans l'eau de sortie 4 souches.

Tableau V: nature de prélèvement et le nombre des souches des ASR

Nature de prélèvement	Nombres des souches	pourcentage
Boues activées (bassin C)	25	46,29%
Boues activées (bassin D)	25	46,29%
Eau de sortie	4	7,40%
Total	54	100%

La figure 25 montre la prédominance des ASR dans le bassin d'aération C et D sont égaux avec un pourcentage de (46,29%) suivi par l'eau de sortie (7,40%).

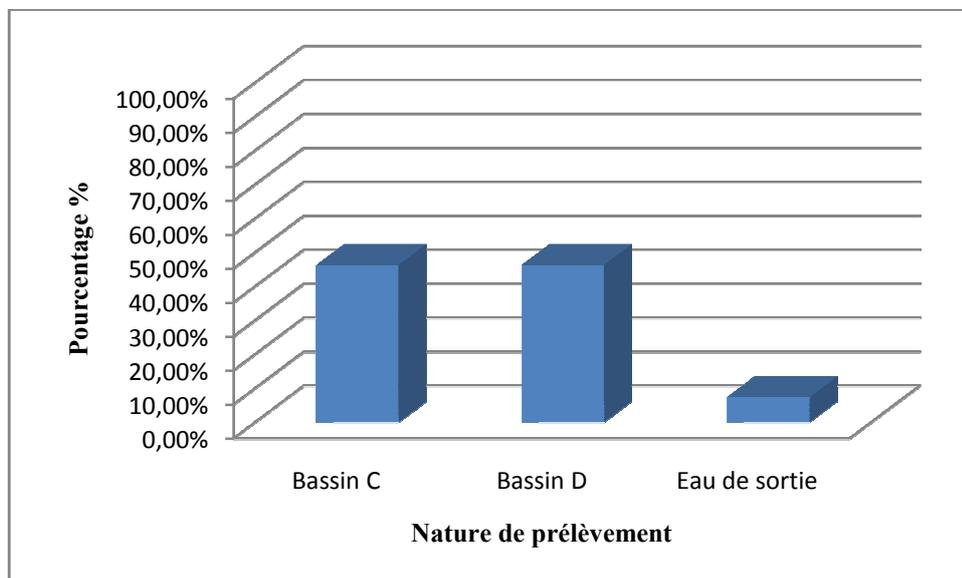


Figure 25 : Identification des ASR dans les différents prélèvements.

III.3.4. Identification de *Pseudomonas aeruginosa* :

III.3.4.1. Etude macroscopique :

Sur gélose Cétrimide toutes les boîtes présentent une nappe de colonies lisses et brillantes avec une couleur blanc crème et un aspect muqueux (≥ 150 colonies) (figure 26), et sur gélose GN les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sont vertes, large à bord irrégulier (figure 27).



Figure 26 : Aspect de *Pseudomonas aeruginosa* sur Cétrémide.



Figure 27: Aspect de *Pseudomonas aeruginosa* sur GN.

III.3.4.2. Etude biochimique :

Tableau VI: les résultats de la galerie Api 20NE de *Pseudomonas aeruginosa*.

Test biochimique	Résultat	
Potassium nitrate	+	Rose / rouge
Tryptophane	-	Vert pale
D-Glucose	+	Jaune
Arginine dihydrodlase	+	Rose
Urée	-	Jaune
Esculine	-	Jaune
Gélatine	+	Diffusion de pigment noir
Nitrophenyl-galactopyranoside	-	Incolore
D- Glucose	+	Trouble
L-arabinose	-	Transparence
D-mannose	-	Transparence
D-mannitol	+	Trouble
N-acétyl-glucosamine	+	Trouble
D-maltose	+	Trouble
Potassium gluconate	+	Trouble
Acide caprique	+	Trouble
Acide adipique	+	Trouble
Acide malique	+	Trouble
Trisodium citrate	+	Trouble
Acide phénylacétique	-	Transparence
Oxydase	+	Violet

Résultat positif (+)

Résultat négative (-)



Figure 28 : Api₂₀ NE d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa*.

Sur les 54 échantillons analysés, 31 souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été identifiées réparties comme suit :

- Dans le bassin d'aération C 16 souches.
- Dans le bassin d'aération D 13 souches.
- Dans l'eau de sortie 2 souches.

Tableau VII: nature de prélèvement et nombre des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

Nature de prélèvement	Nombres des souches	pourcentage
Boues activées (bassin C)	16	51,61%
Boues activées (bassin D)	13	41,93%
Eau de sortie	2	3,22%
Total	31	100%

La figure 29 montre la prédominance de *Pseudomonas aeruginosa* dans le bassin d'aération C avec un pourcentage de (51,61%) suivi par le bassin d'aération D (41,93%) et l'eau de sortie (3,22%).

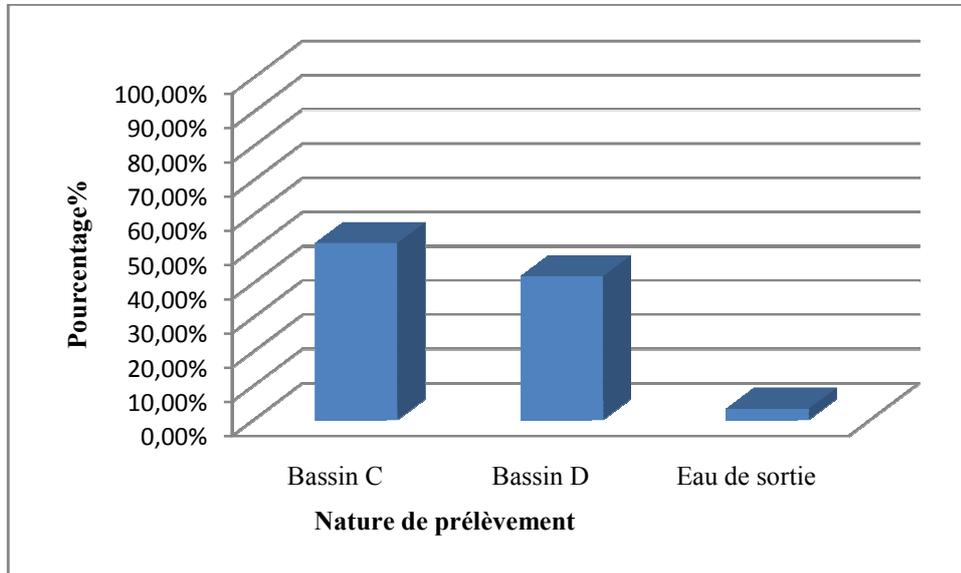


Figure 29: Identification de *Pseudomonas aeruginosa* dans les différents prélèvements.

III.3.5. Identification des *Staphylococcus aureus* :

III.3.5.1. Etude macroscopique :

Sur gélose Chapman toutes les boîtes présentent une nappe de colonies jaunes (figure 30), et sur gélose Chapman (purification), 21 sur 54 boîtes présentent des colonies jaunes (Mannitol positif) (figure 31).



Figure 30 : Aspect de Staphylocoque sur Chapman.



Figure 31 : Aspect de Staphylocoque sur Chapman (purification).

III.3.5.2. Etude biochimique :

❖ Recherche de l'oxydase :

21 souches sont oxydases positives, observation d'une couleur violet sur la plaque d'oxydase.

❖ Recherche de la catalase :

21 souches sont catalases positives, formation des bulles.

❖ Recherche de la coagulase :

Les 21 souches sont coagulase négative, absence de coagulation. Présence de 21 souches de Staphylocoque à coagulase négative.

Sur les 54 échantillons analysés, 21 souches des *Staphylocoques sp* ont été identifiées et sont réparties comme suit :

- Dans le bassin d'aération C 12 souches.
- Dans le bassin d'aération D 8 souches.
- Dans l'eau de sortie 1 souches.

Tableau VIII : nature de prélèvement et nombre des souches des Staphylocoques.

Nature de prélèvement	Nombres des souches	pourcentage
Boues activées (bassin C)	12	57,14%
Boues activées (bassin D)	8	38,09%
Eau de sortie	1	5,71%
Total	21	100%

La figure 32 montre la prédominance de *Staphylocoque* Sp dans le bassin d'aération C avec un pourcentage de (51,61%) suivi par le bassin d'aération D (41,93%) et l'eau de sortie (3,22%).

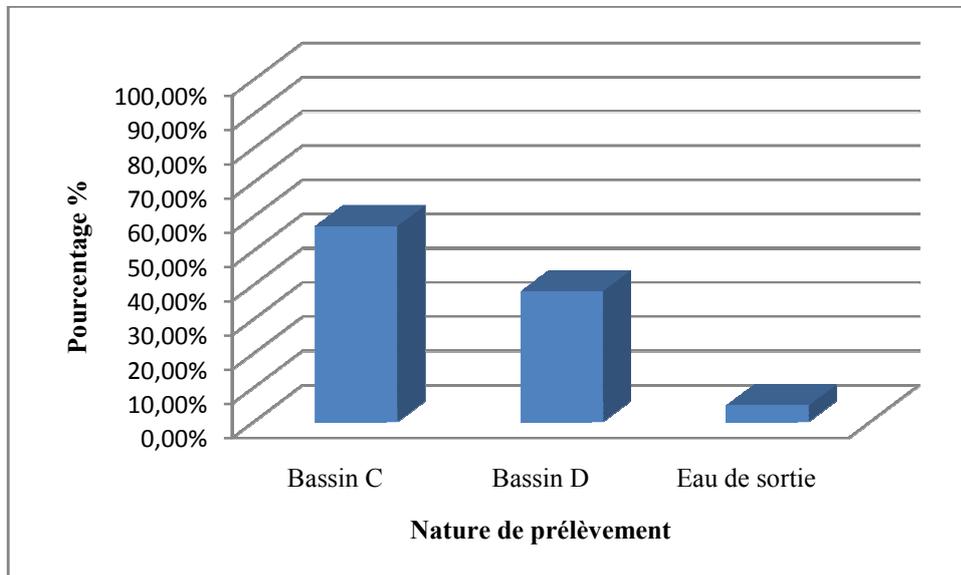


Figure 32: Identification des staphylocoques dans les différents prélèvements.

III.3.6. Identification du *Vibrio* sp :

III.3.6.1. Etude macroscopique :

❖ Sur le milieu d'enrichissement (1) :

Sur le milieu de premier enrichissement tous les flacons présentent un trouble ainsi qu'un voile à la surface. Cet aspect indique une suspicion de *Vibrio cholerae* (figure 33), sur le milieu de deuxième enrichissement tous les tubes présentent un trouble (figure 34) et sur gélose GNAB 17 sur 54 boîtes présentent des colonies suspectes (plates, transparentes, bord régulier «comme une gouttelette d'eau») (figure 35).

NB : le voile est riche en *Vibrio*



Figure 34: Deuxième enrichissement.



Figure 33: Premier enrichissement.



Figure 35 : Aspect de *Vibrio cholerae* sur GNAB.

III.3.6.2. Etude biochimique :

❖ Recherche d'oxydase :

Cet enzyme est présent chez 17 souches isolées (figure 36).

❖ Test KIA :

17 souches sont : Glucose positives, lactose négatives, H₂S négatif et agazogènes. Ces souches présentent l'aspect de *Vibrio cholerae* sur milieu KIA (figure 37).

❖ Galerie Ap₂₀E et Ap₂₀NE :

L'identification des 17 souches isolées est réalisée sur galerie Ap₂₀E et Ap₂₀ NE, ce qui nous a permis d'identifier : 12 *V. cholerae* (NAG), 2 *V. alginolyticus*, 1 *V. parahaemolyticus*, 1 *V. vulnificus* et 1 *Shewanella putrefaciens*.

❖ Agglutination :

Toutes les souches de *Vibrio cholerae* isolées sont non agglutinables.



Figure 36 : Teste d'oxydase du genre *Vibrio* .



Figure 37 : Aspect de *Vibrio* sur KIA.

Tableau IX : les résultats de la galerie Api 20 E des souches identifiés :

Test biochimique	<i>V.cholr eae (NAG)</i>	<i>V.vulnificus</i>	<i>Shewanella putrefaciens</i>
Ortho-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 (-)

Tableau X : résultats de la galerie Api 20 NE

Test biochimique	<i>V.cholrae</i> (NAG)	<i>V.alginolyticus</i>	<i>V.parahaemolyticus</i>
Potassium nitrate	+	+	+
Tryptophane	+	+	+
D-Glucose	+	+	+
Arginine dihydrodase	-	-	-
Urée	-	-	-
Esculine	+	+	-
Gélatine	+	+	+
Nitrophenyl-galactopyranoside	+	+	+
D- Glucose	+	+	+
L-arabinose	-	-	+
D-mannose	-	-	-
D-mannitol	+	+	+
N-acétyl-glucosamine	+	+	+
D-maltose	+	+	-
Potassium gluconate	+	+	+
Acide caprique	-	-	-
Acide adipique	-	-	-
Acide malique	+	+	+
Trisodium citrate	+	-	+
Acide phénylacétique	-	-	-
Oxydase	+	+	+

Résultat positif (+)

Résultat négative (-)



Figure 38 : Api 20 E d'une souche de *Vibrio cholerae* NAG.



Figure 39 : Api 20 NE d'une souche de *Vibrio cholerae* NAG.

Sur les 54 échantillons analysés, 16 souches de *Vibrio* ont été identifiées réparties comme suit :

- Dans le bassin d'aération C 12 souches.
- Dans le bassin d'aération D 4 souches.
- Dans l'eau de sortie aucun souche.

Tableau XI : nature de prélèvement et nombre des souches de *Vibrio* sp.

Nature de prélèvement	Nombres des souches	pourcentage
Boues activées (bassin C)	12	75%
Boues activées (bassin D)	4	25%
Eau de sortie	0	0%
Total	16	100%

La figure 40 montre la prédominance de *Vibrio sp* dans le bassin d'aération C avec un pourcentage de (75%) suivi par le bassin d'aération D (25%) et l'eau de sortie (0%).

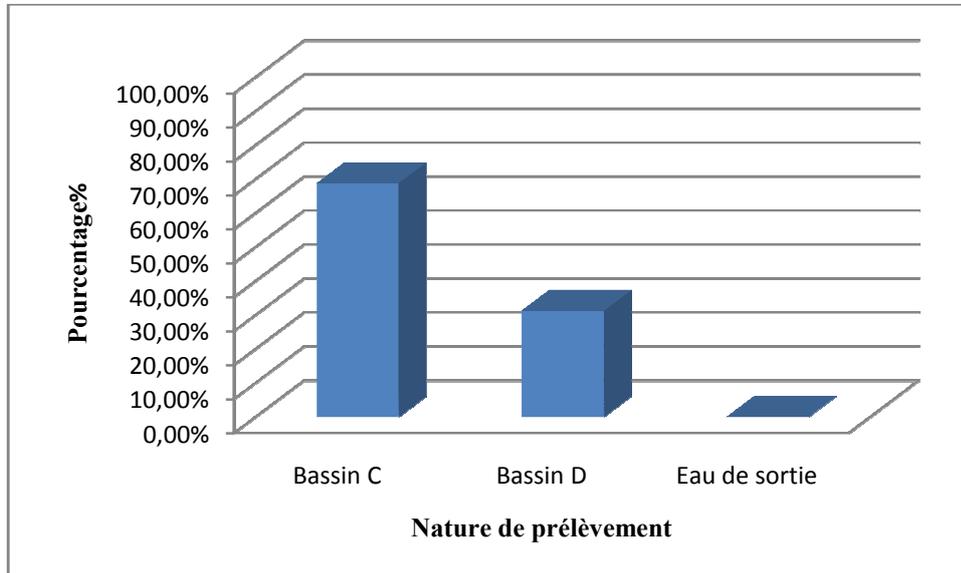


Figure 40 : Identification de *Vibrio sp* dans les différents prélèvements.

III.3.7. Identification de *Salmonella* :

III.3.7.1. Etude macroscopique :

❖ Sur le milieu de pré-enrichissement (EPT) :

Sur le milieu de pré-enrichissement tous les tubes d'EPT présentent un trouble (figure 41), sur le milieu d'enrichissement SFB, tous les tubes d'enrichissement (SFB) sont de couleur rouge –orangé indiquant une suspicion de salmonelle (figure 42) et sur gélose Héktoen, 24 sur 54 boîtes présentent des colonies suspectes noires à centre verts (figure 43).



Figure 41 : Pré-enrichissement dans des flacons d'EPT.



Figure42 : Premier enrichissement dans des tubes SFB.

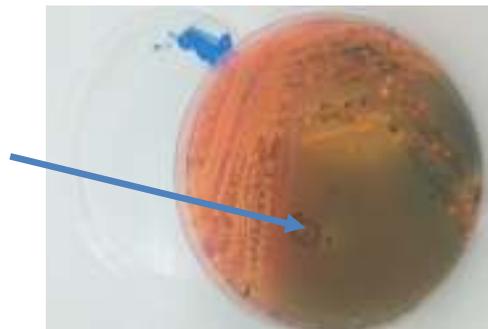


Figure 43 : une colonie suspecte de salmonelle sur Hecktoen.

III.3.7.2. Etude biochimique :

❖ Test TSI :

24 tubes de TSI sont négatifs :

Pente rouge : lactose et saccharose négatif, culot rouge : glucose négatif, absence d'un précipité noir : H₂S négatif, absence de production de gaz : pas de fissure ou des bulles d'air sur la gélose (figure 44). Les 54 prélèvements analysés sont négatifs.



Figure 44: TSI de quelque Colonies suspectes

III.4. Représentation graphique de l'identification des bactéries pathogènes dans les boues activées :

La figure 45 montre la prédominance des ASR et des *Streptocoques fécaux* (26%) suivi par *E. coli* et *Pseudomona aeruginosa* avec un pourcentage de 16 et 15% respectivement et à la fin les *Staphylocoques* sp avec (10%) et *Vibrio* sp avec (7%).

D'après les résultats trouvés on peut constater que les boues activées sont très chargées par les germes pathogènes.

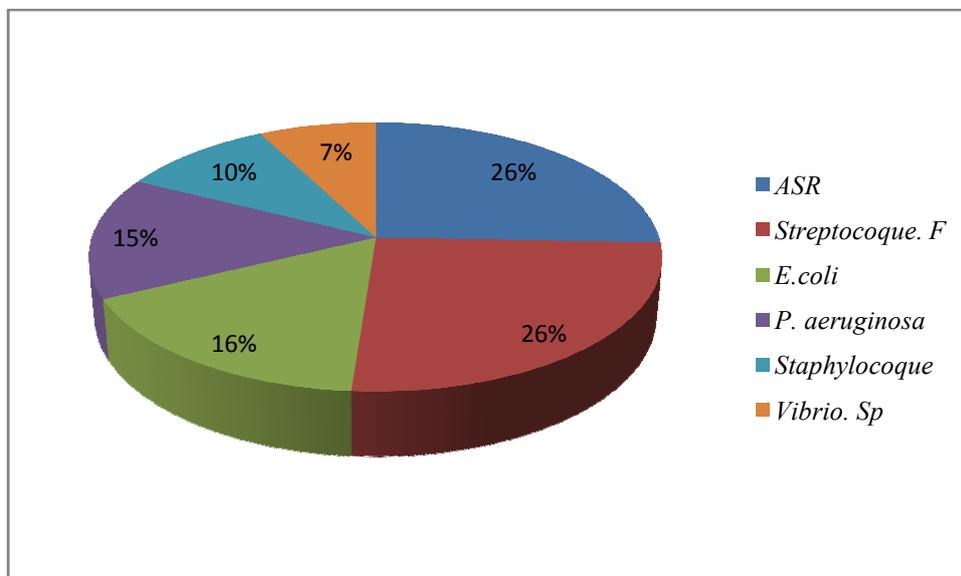


Figure 45 : Identification des bactéries pathogènes dans les boues activées.

Notre études est mené sur un totale de 54 échantillons de différents types on remarque que les prélèvements les plus chargés par les bactéries sont les boues activées du bassin C (51,18%), suivi par les boues activées du bassin D (42,65%), et en fin pour l'eau de sortie nous avons un pourcentage de (6,16%).

Les résultats obtenus peuvent s'expliqués que le traitement biologique par les boues activées utilisé dans la STEP favorise la croissance bactérienne pour dégrader les produits carbonée ou azotée et la croissance des germes pathogènes. En plus, les boues activées sont considérées comme le milieu optimal pour la prolifération microbienne.

Tableau XII : résultats des analyses bactériologiques des différents prélèvements

type de prélèvement	Nombre d'échantillon	Nombres des souches	pourcentage
Boue activée (bassin C)	25	108	51,18%
Boue activée (bassin D)	25	90	42,65%
Eau de sortie	4	13	6,16%
Total	54	211	100%

Le tableau XIII montre l'abondance des protozoaires et des métazoaires dans les deux bassins d'aération ce qui indique une épuration correct. Les MES avec une moyenne de 3,82 g/l et 3,7 g/l pour le bassin C et D respectivement, les MVS avec une moyenne de 54,44% et 53,33% pour les deux bassins et pour l'indice de Mohlman est de 193 ml/g pour le bassin C et 191ml/g pour le bassin D ces valeurs indiquent le bon fonctionnement de la STEP de Baraki. A la fin les analyses bactériologiques montrent la présence d'une charge élevée des bactéries dans les bassins d'aération par rapport à l'eau de sortie.

Tableau XIII : résultats des analyses physico-chimique, l'observation microscopique et les analyses bactériologiques des différents prélèvements

Nature de prélèvement	protozoaire	métazoaire	Les bactéries	MES	MVS	L'indice de Mohlman
Boues activées (bassin C)	+++	++	108	3,82g/l	54,44%	193 ml/g
Boues activées (bassin D)	+++	++	90	3,7g/l	53,33%	191 ml/g
Eau de sortie	-	-	13	/	/	/

(+++): population abondante, (++) : population moyenne ; (-) résultat négatif

Les boues activées forment un écosystème très complexe où cohabitent différentes souches bactériennes et une microfaune (protozoaire et métazoaire), les bactéries sont les actrices principales du traitement. Les espèces varient suivant le type de station de traitement et sont caractéristiques du fonctionnement d'une station. (Pujol et al, 1990, Calner et al., 1999).

Les boues peuvent contenir des microorganismes et des germes pathogènes apportés par les eaux d'égout et provenant pour l'essentiel des excréments humaines (matières fécales et urinaires) et des déjections animales (Ramdani, 2007).

La boue activée assure le bon fonctionnement de traitement biologique, son rôle est confirmé par l'absence de *Vibrio cholerae* dans les 4 prélèvements de l'eau de sortie de la STEP se qui indique que la boue activée filtre quelque germes pathogènes.

Conclusion

L'Algérie a consenti un effort considérable en matière de traitement des eaux usées, il existe actuellement plus d'une centaine de station d'épuration. Les eaux usées issues de diverses activités domestiques et industrielles doit être subit un traitement biologique assurer par les boues activées qui jouent un rôle très important dans ce traitement grâce à la présence des microorganismes.

La présente étude a permis la caractérisation physico-chimique, microscopique et bactériologique des boues activées de la STEP de Baraki.

Les analyses physico-chimiques de notre étude montrent que les MES présentent une moyenne de 3,82 g/l, MVS avec une moyenne de 54,44% et l'indice de Mohlman avec une moyenne de 193ml/l, ce qui indique un bon fonctionnement de la STEP Baraki.

L'observation microscopique montre la présence d'une variété d'espèces des protozoaires englobant *Zoothamnium pygmaeum*, *Vorticelles* à pédoncule long, *Litonotus*, *Aspidisca costata*, *Arcella*, *Paramecium* et une espèce de métazoaires (Rotifère *Digononta*). Ces derniers sont des indicateurs d'une épuration correcte, ce qui confirme que les deux bassins d'aération de la STEP ont un bon état de fonctionnement.

Les analyses bactériologiques de notre étude sont indiquent que la boue activées renferment une charge importante en bactéries pathogènes ; les *anaérobies sulfito-reductrices* et des streptocoques fécaux avec un taux de 26%, 15% D'*E. coli*, 16% de *Pseudomona aeruginosa*, 10% de Staphylocoques, 7% de *Vibrio* sp et absence de *Salmonella*.

A travers cette étude, il est clair que le traitement biologique par les boues activées des eaux usées de la STEP de Baraki est satisfaisant et que la boue activée assure le bon fonctionnement de traitement biologique, son role est confirmée par l'absence de *Vibrio cholerae* dans les 4 prélèvements de l'eau de sortie de la STEP se qui indique que la boue activée filtre quelque germes pathogènes.

Nous suggérons les points suivants :

- ✓ Compléter les analyses physico-chimiques des boues par un suivi de la qualité bactériologique au niveau de la station afin d'assurer la réutilisation de ces boues dans la valorisation agricole.
- ✓ Remplacer la réutilisation des boues activées qui contient un mélange de bactéries bénéfiques et pathogènes par leurs inoculations directes des souches bactériennes isolées dans les boues activées.

A

Aandreoni V. Anaerobic Digestion of Swine Slurry and agro-industrial Wastes in Fixed bed up-floué digesters. Symposium NICE 4-6 Avril 1989. Technical Advances in biofilm reactor.

B

Balière C. Les *Escherichia coli* potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Bretagne occidentale 2017. P23.

Bassompierre C. Procédé à boues activées pour le traitement d'effluents papetiers : de la conception d'un pilote à la validation de modèle. Thèse pour obtenir le grade docteur d'INPG de Grenoble 2007. P 41-44.

Baumont S, Camard J-P, Lefranc A, Franconi A. Réutilisation des eaux usées: risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France 2004. Rapport ORS, P220.

Bergey. Gram négative Bacteria of general, medical, or industrial importance. Lst Edition 1984. Vol 1

Berland J-M, Deplat L, Malrieu J et Pronost J. Dispositions constructives pour améliorer leur fonctionnement et faciliter les exploitations. Paris 2002, 1^{er} édition coordonnée par Cemagref.

Bontoux J. Introduction à l'étude des eaux douces : eaux naturelles, eaux usées, eaux 1993.

C

Cabelli V.J. Obligate anaerobic bacterial indicators. P 171-200. In indicators of viruses in water and food. Edition. Berg. G 1987.

Canler JP, Perret JM, Duchene P, Cotteux E. Aide au diagnostic des stations d'épuration par observation microscopique des boues activées. Cemagref édition 1999. P12-99.

Canler JP. Document technique FNDAE N°33. Dysfonctionnement biologiques des stations d'épuration : origine et solutions. Edition Cemagref 2005.

Cardot C. Les traitements de l'eau-procédés physico-chimiques et biologiques. Paris 1999. Ellipses. P 247.

Corbiere Morot-Bizot S. Les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons Thèse pour obtenir le grade docteur université Blaise Pascal 2006.P 28

D

Degremont. Mémento technique de l'eau. Paris 1989. Vol 1

Degremont. Mémento technique de l'eau. Paris, Lavoisier 2005. 10^e édition .P 1904.

Delarras C. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier, Paris 2007. P 476.

Dugniolle H, L'assainissement des eaux résiduaires domestique, CSTC –revue n° 3-septembre 1980.

F

Flandrois JC. Bactériologie médicale. Presse universitaire de Lyon 1997. P 207.

Glanic R et Benneton j-p, Caractérisation d'effluents d'assainissement individuel et essais de matériels d'assainissement autonome – TSM – L'eau 1989. P11.

L

Lazili H. Rejets non-conformes réceptionnés par la station d'épuration des eaux usées du Grand Alger-Baraki, Institut Supérieur des Techniques des eaux 2002. P1-2

Le Minor L. Salmonella, In : Krieg N., Holt, J. (Eds) Bergey's Manual of systematic bacteriology (vol1), Williams and Wilkins : Baltimore 1984 P 427-458.

M

Madoni P, Davoli D, Gibin G. Survey of filamentous microorganisms from bulking and foaming activated sludge plants in Italy, water Res 2000. P1767-1772.

P

Pandolfi D. Caractérisation morphologique et physiologique de la biomasse des boues activées par analyse d'image. Thèse pour obtenir le grade docteur d'INPG de Lorraine 2006. P 6-13.

Pilet C. Bactériologie médicale et vétérinaire, systématique bactérienne 1983.

Pujol R, Vachon A, Martin G. Guide technique sur le foisonnement des boues activées. Document technique FNDAG 1990. P8.

R

Ramdani N. Contribution à l'étude des boues urbaines de la station d'épuration des eaux usées résiduaires. Effet sur la fertilité d'un sol sableux. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister université d'Oran 2007. P 32

Rodier J. Analyse de l'eau : Eau naturelle, Eau résiduaire, Eau de mer. Edition Dunod, Paris 1996. P 1384.

Roger P, Alain V et Guym. Document technique FNDAE N° 08. Guide sur le foisonnement des boues activées. Edition Cemagref 1990.

S

Sandolff JP, Msartenstein. The outre cell-wall membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. The journal of infections diseases 1974. P 81-93.

Y

Yeterian E. Base moléculaire de la maturation et de la sécrétion de la pyoverdine chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'Université Strasbourg 2010 P.11.

V

Vaillant J.R. Perfectionnement et nouveautés pour l'épuration des eaux résiduaires : eaux usées urbaines et eaux résiduaires industrielles. Ed. Eyrolles. Paris 1974, P 413.

T

Tomas O. Métrologie des eaux résiduaires. Edition CEBDOCsprl, liège 1995. P 192.

Annexe I

Matériel pour les analyses physico-chimiques :

Appareillage :

- Etuve de 105°C.
- Centrifugeuse.
- Balance analytique.
- Dessiccateur

Verrerie :

- Tubes de centrifugations.
- Eprovettes.
- Capsule d'évaporation.
- Creusets.
- Flacons.



Balance analytique



Centrifugeuse



Etuve de 105°C

Matériel pour l'observation microscopique de la microfaune :

- Microscope photonique.
- Lame et lamelle.
- Micropipette.

Matériel pour les analyses bactériologiques :

Appareillage :

- Réfrigérateur (chambre froide)
- Vortex
- La rampe de filtration
- La pompe
- L'étuve de 37°C
- Les membranes filtrantes.
- Bec bunsen.
- Pince.

Verrerie :

- Flacons stériles
- Tubes sec stériles
- Pipettes graduées.
- Les pipettes pasteurs
- Micro-pipette
- Boîtes de Pétri stériles.
- Les membranes filtrantes.
- Bec bunsen.
- Pince.



La rampe de filtration avec la pompe et bec bunsen



Etuve de 37°C



Vortex

La composition des milieux de culture :

Gélose lactose au TTC et Tergitol : (composition type (g/l)) :

- Peptone de viande 10
- Extrait de viande 5
- Extrait de levure 5
- Lactose 20
- Bleu de Bromothymol 0,05
- Agar 18

Milieu Slanetz et Bartley : (composition type (g/l)) :

- Peptone de caséine 15
- Peptone de farine de soja 5
- Extrait de levure 5
- Glucose 2
- Azide de sodium 0,4
- Phosphate dipotassique 4
- Agar 18

Milieu viande-foie : (composition type (g/l)) :

- Base viande-foie 30
- D glucose 2
- Chlorhydrate de cysteine 0,5
- Agar 8

Gélose nutritif : (composition type (g/l)) :

- Peptone 10
- Extrait de viande 3
- Extrait de levure 3
- Chlorure de sodium 5
- Agar 18

Agar GNAB : (composition type (g/l)) :

- Peptone de viande 10
- Extrait de viande 3
- Chlorure de sodium 5
- Bile de bœuf desséchée 2
- Agar 18

Milieu Hektoen : (composition type (g/l)) :

• Peptone pepsique de viande	15
• Extrait de viande	3
• Extrait de levure	3
• Lactose	12
• Salicine	2
• Saccharose	12
• Chlorure de sodium	5
• Sels biliaires	4
• Bleu de Bromothymol	0,064
• Fuchsine acide	0,1
• Agar	18

Milieu Chapman : (composition type (g/l)) :

• Extrait de levure	3
• Extrait de viande	3
• Tryptone	5
• Peptone bactériologique	10
• Chlorure de sodium	70
• Mannitol	10
• Rouge de phénole	0,05
• Agar	18

Milieu cétrimide :

• Peptone de gélatine	1,4g
• Chlorure de magnésium	10g
• Sulfate de potassium, N triméthyle-ammonium	0,3g
• Agar	13g
• Glycérine (ml)	10g

Annexe II

Tableau XIV : résultats des analyses physico-chimiques

Date	Bassin d'aération C			Bassin d'aération D		
	MES	MVS	V30	MES	MVS	V30
10/02/2019	2,2mg/L	45%	80ml	2,2mg/L	45%	80ml
24/02/2019	3,4mg/L	54%	150ml	3,4mg/L	53%	150ml
03/03/2019	2,9mg/L	/	170ml	2,7mg/L	/	170ml
10/03/2019	3,1mg/L	57%	120ml	3,4mg/L	51%	110ml
17/03/2019	3,9mg/L	55%	180ml	3,8mg/L	53%	170ml
18/03/2019	4mg/L	54%	180ml	4,1mg/L	51%	180ml
24/03/2019	3,3mg/L	56%	170ml	3,4mg/L	57%	170ml
25/03/2019	4,3mg/L	56%	180ml	3,4mg/L	55%	160ml
07/04/2019	4,8mg/L	58%	280ml	4,5mg/L	58%	320ml
08/04/2019	6,3mg/L	55%	420ml	6,1mg/L	57%	400ml

Annexe III

Tableau XV : résultats des observations microscopiques des boues activées (bassin d'aération C)

	10/02	24/02	03/03	10/03	17/03	18/03	24/03	25/03	07/04	08/04
Arcella	++						+++	+++	+++	++
Litonotus	+++	+++		+			+	+++		+++
Paramecium	++	+								
Vorticella	+++	+++		+++			+++	+++	+++	+++
Zoothammium	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
Aspidisca	+++	+++		+++			++	++	+++	+++
Digononta	++	++								

(+++) : Population abondante

(++) : Population moyenne

(+) : Population rare

Tableau XVI : résultats des observations microscopiques des boues activées (bassin d'aération D)

	10/02	24/02	03/03	10/03	17/03	18/03	24/03	25/03	07/04	08/04
Arcella	++						+++	+++	+++	+++
Litonotus	++	++					+	++		+++
Paramecium	++	+								
Vorticella	++	+		+++			+++	+++	+++	+++
Zoothammium	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Aspidisca	+	+	+	+++			+++	+++	+++	+++
Digononta	++	++								

(+++) : Population abondante

(++) : Population moyenne

(+) : Population rare