



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

كلية علوم الطبيعة و الحياة  
معهد العلوم البيولوجية

**MEMOIRE**  
Présenté par : *Melle.* ZINEB ABDESSEMED  
Pour l'obtention du diplôme de

**MAGISTER**  
*En microbiologie des écosystèmes aquatiques*

*Thème*

# Etude Microbiologique au niveau d'une Station d'Épuration « STEP Timgad »

*Devant la commission d'examen :*

❖ <i>Président</i>	M. T. HOUHAMDI	<i>Professeur</i>	Université de Guelma
❖ <i>Rapporteur</i>	M. A. DARBOUCHE	<i>Professeur</i>	Université de Khenchela
❖ <i>Examineur</i>	M. M. BENOUNIS	<i>Maitre de Conférences A</i>	Université de Khenchela
❖ <i>Examineur</i>	M. D. BOUDMAGH	<i>Maitre de Conférences A</i>	Université de Constantine
❖ <i>Examineur</i>	Dr. Y. ATIA	<i>Professeur Médecin Microbiologiste</i>	Laboratoire Central E.P.H. -Batna-
❖ <i>Invitée</i>	Mme. S. YEZA	<i>Chef de laboratoire</i>	Laboratoire A.D.E. -Batna-
❖ <i>Invité</i>	M. A. BENFERHI	<i>Directeur de projet</i>	STEP de Timgad -Batna-

Promotion : 2009/2010

## Dédicace

C'est avec une grande joie que je dédie ce modeste travail ;

A ceux qui m'ont donnée tendresse, amour, affection et soutien à mes chère parents je leurs doit tous ce que je suis.

A ceux qui étaient toujours le meilleur exemple devant moi à mes sœurs : AMINA, HADJIRA et LABIBA ; et mes frères ISAM et KHALIL ;

Au souvenir de la chère AWATEF que j'ai perdue cette année que DIEUX l'apporte a son paradis le plus supérieur.

A ceux qui étaient une deuxième famille et un deuxième chaleureux foyer à mes deuxièmes parents oncle RACHIDE et tante CHEMAMA.

A ma cousine SANA toujours soucieuse de mon avenir et mon cousin ALA toujours prés à m'écouter.

A mes deux étoile filantes mes petites cousines et copines à la fois mes adorables SOFIE et SOUSOU.

A ceux qui ont toujours bouleversés mon silence avec leurs bêtises et leur ambiance, à mes charmantes nièces : IBTIHAL, FERYAL et la petite AWATEF.

Et mes séduisants neveux : WAFI, MONSIF, RAOUF, MOUNDHIR, AHMAD, MOUÏZ, MOUSÂB, WADOUD, YOUNESS, TALIB et KHALIFA.

A mon grand-père BELGUASSEM et au souvenir de ma grand-mère AYCHA.

A ma belle sœur HIND et mes beaux frères ALI, FOUAID et LAZHAR.

A ceux qui ont partagé avec moi mes plus belles années d'université ; mes amies intimes IKRAM, ACHEWAK et KHADIJA.

A un bon ami toujours disponible et partant ILYES.

A mes amis : NADJAH, RIMA, SARRA, MERIEM, HANA, NADJET, KHADIJA, AMIRA, SAFIA, IMEN, NAIMA, AYCHA, CHICHA, KOUKOU, NORELYAKIN, YASMINA, SAFIYA, SAIDA, SANA, ASMA, LEYLA, WASILA, HAKIMA, TISOU et AICHA.

DJAMEL, MOUHSINE, YASSINE, TOUFIK, ALI, FARES, FATEH, SAMI, ISLAM, LYES, SIF, MOUHEMED, AMOR, TAREK et KHIROU.

A tous ceux que j'aime, et qui m'aiment, ceux qui font partie du charme de ma vie.

---

## Remerciements

J'exprime d'abord mes profonds remerciements au **Pr. M. HOUHAMDI**, professeur à l'université de **Guelma** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Je suis spécialement reconnaissante au **Dr. A. ATIYA** médecin microbiologiste et chef de laboratoire de l'hôpital B –**Batna**– de m'avoir acceptée dans son laboratoire pour réaliser cette étude et d'être patient et efficace.

Une fois sur la paillasse j'étais dépendante de l'aide de Mme. SOUHILA que je remercie infiniment ainsi que le reste de l'équipe les Demoiselles BENFIFI M., SORIYA, NAWEL et LOUIZA.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à **Mme. S. YEZA** chef de laboratoire de l'A.D.E. – **Batna**– et ces assistantes pour leurs accueils au sein du laboratoire et la réalisation des analyses des paramètres physico-chimiques et pour leurs orientations judicieuses.

Ce travail a été lu et examiné par **M. D. BOUDMAGH** et **M. M. BENOUNIS** que je remercie pour leur disponibilité en acceptant de faire partie de ce jury.

Je tiens également à remercier honorablement **Pr. A. DARBOUCHE** de l'université de – **Khanechela**– pour sa simplicité en acceptant la direction de ce modeste travail après avoir remarquablement nous former au cours de notre année théorique.

J'exprime mes vifs remerciements à **M. A. BENFERHI** qui m'a permis de réaliser l'étude à la station de **Timgad** car sans son avis favorable et l'aide du personnel de la STEP ce travail n'aurait pas vu le jour, Mme. LILA chef de laboratoire et M. HMIDA.

Ce mémoire n'a pas pu être fini sans la collaboration du personnel de la STEP de **Batna** les Dames HEMAMI, SOUMIYA et SALWA ; M. MOURAD le directeur et M. TOUR K. le chef de laboratoire.

Mes remerciements les plus vifs sont également adressés à tous mes professeurs sans exception ; **Mme. BENJOUMANA K.**, **Mme BOUANANI S.**, **M. HOUHA B.** pour leurs amabilités, délicatesses et sincérités.

Je tiens à remercier **M. BOUABDELLAHA H.** directeur de laboratoire de D.D.S. et toute l'équipe du laboratoire.

---

Les observations microscopiques de la faune des boues étaient réalisées au laboratoire de **Dr. AYACHI** maitre de conférences au département des sciences de vétérinaire que je tien a le remercier pour son hospitalité.

Je remercie aussi **M. CHAYEB** chef de département des sciences biologiques de **LEGUOUAT** et **M. FRAH** professeur au département des sciences exactes de **BATNA** pour l'aide qu'ils m'ont apporté pour la réalisation de l'étude statistique et le choix des tests les plus adéquats.

Au cours de deux ans de travaille l'appui de mes collègues de promotion de poste graduation qui ont toujours étaient là avec leurs aide et idées je tiens à les remercier énormément : les demoiselles **CHORFI K.**, **BENAMMAR L.**, **KHEDOUMA A.**, **YEKHEF W.** et **M. HAMAMES M.** Mes collègues de la promotion poste graduation Ecologie : **Mme BOUGUANDOURA I.**, les demoiselles **SMAIL H.**, **OSMANI S.** et **ZIDI A.** et les Monsieur **M. BELMEKKI M.** et **M. BOUGUANDOURA A.**

La réalisation de la partie pratique de ce mémoire a demandé beaucoup de produits, des réactifs et des milieux de cultures que je n'ai pas hésité à les demander de **Mme CHORFI R.** responsable des laboratoires de recherche de l'université de **Khenchela**, touts mes respects pour sa coopération.

En fin mes remerciements vont aux employés de la bibliothèque du département et de la bibliothèque centrale des deux universités **KHENECHELA** et **BATNA**.

*Zineb ABDESSEMED*

## Sommaire

<b>Introduction et objectif du travail.....</b>	<b>01</b>
<b>Premier chapitre : Revue bibliographique</b>	
<b>3-38</b>	
Première partie : Historique & Généralités.....	03
1. Historique de l'épuration des eaux.....	03
1.1. Lutter contre les odeurs .....	03
1.2. Epurer l'eau par des boues activées.....	04
2. Généralités sur les eaux.....	05
2.1. Cycle de l'eau.....	05
2.2. Sources principales d'eaux brutes.....	05
2.2.1. Eaux de pluie.....	05
2.2.2. Eaux de surface.....	05
2.2.3. Eaux de rivière (partie amont).....	05
2.2.4. Eaux de rivière (partie Aval).....	06
3. Composition et paramètres de qualité de l'eau.....	06
3.1. Paramètres physico-chimiques .....	06
3.1.1. Température.....	06
3.1.2. Potentiel Hydrogène (pH) .....	06
3.1.3. Conductivité / Salinité / Solides Dissous Totaux (T.D.S.) .....	07
3.1.4. Turbidité.....	07
3.1.5. Matière organique (MO) .....	07
3.1.5.1. Matière organique autochtone.....	08
3.1.5.2. Matière organique allochtone .....	09
3.1.6. Matières azotées (MA).....	09
3.1.6.1. Nitrates.....	09
3.1.6.2. Nitrites.....	09
3.1.6.3. Ammonium.....	10
3.1.7. Matières phosphorées.....	10
3.1.8. Fer.....	10
3.1.9. Manganèse.....	10
3.1.10. Cuivre.....	11
3.1.11. Chlorure.....	11
3.1.12. Fluore.....	11
3.1.13. Pesticides et produits apparentés.....	12
3.2. Paramètres bactériologiques.....	12
3.2.1. Coliformes totaux (CT) .....	12
3.2.2. Coliformes fécaux (CF) .....	12
3.2.3. <i>Streptococcus</i> fécaux.....	13
3.2.4. <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs.....	13
4. Eaux usées.....	14
4.1. Définition.....	14
4.2. Origine et composition des eaux usées .....	14
4.2.1. Eaux usées domestiques.....	14
4.2.2. Eaux industrielles.....	14
4.2.3. Eaux agricoles.....	15
4.3. L'équivalent habitant (EH).....	15
4.4. Septicité des eaux.....	15
4.5. Qualité de l'effluent.....	16

5. Normes algériennes de rejet d'effluents.....	16
Partie II : Etude géographique.....	17
1. Géographie.....	17
Partie III : Ouvrages et Principe de fonctionnement d'une STEP.....	18
1. Capacité de la station de Timgad.....	18
2. Les ouvrages de la STEP.....	18
2.1. Station de relevage.....	18
2.2. Les ouvrages de prétraitement.....	19
2.2.1. Dégrillage.....	20
2.2.1.1.Évacuation des déchets.....	20
2.2.2. Dessablage.....	20
2.2.2.1.Lavage et essorage des sables.....	21
2.2.3. Dégraissage-Déshuilage.....	21
2.2.3.1.Élimination des graisses.....	21
2.3. Les ouvrages du traitement biologique.....	21
2.3.1. Le bassin d'aération.....	22
2.3.2. Le clarificateur.....	22
2.4. La désinfection.....	23
2.5. L'extraction des boues en excès.....	24
2.6. La recirculation des boues.....	24
3. Le traitement biologique des eaux.....	25
3.1. Les bactéries.....	25
3.2. Les protozoaires.....	26
3.2.1. Les flagellés.....	26
3.2.1.1.Les <i>Monas</i> .....	26
3.2.1.2.Les <i>Trepomonas (Diplomonodida)</i> .....	26
3.2.2. Les ciliés.....	27
3.2.2.1.Les ciliés holotriches nageurs.....	27
3.2.2.1.1. <i>Trachelophylum pusillum</i> .....	27
3.2.2.1.2. <i>Litonotus</i> ou <i>Lionotu</i> .....	27
3.2.2.2.Les ciliés fixes.....	27
3.2.2.2.1. <i>Vorticelle</i> à pédoncule court.....	27
3.2.2.2.2. <i>Vorticelle</i> à pédoncule long.....	27
3.2.2.2.3. <i>Epistylis rotans</i> .....	28
3.2.2.3.Les ciliés brouteurs.....	28
3.2.2.3.1. <i>Espidisca costata</i> .....	28
3.3. Les métazoaires.....	29
3.3.1. Les <i>Rotifère digononta</i> .....	29
3.3.2. Les <i>Nématodes</i> .....	29
4. Les principaux paramètres d'épuration.....	29
4.1. La charge massique (Cm).....	29
4.2.La charge volumique (Cv).....	30
4.3.Le temps de séjour (Ts).....	30
4.4.L'âge de boues (A).....	31
4.5.L'indice de boues (IB).....	32
Partie IV : Nitrification / Dénitrification.....	33
1. L'ammonification.....	33
2. L'assimilation.....	33
3. La nitrification.....	34
3.1.La nitratisation ; Oxydation des $\text{NH}_4^+$ en $\text{NO}_2^-$ .....	34

.....	34
3.2.La nitratisation ; oxydation de $\text{NO}_2^-$ en $\text{NO}_3^-$	35
.....	35
4. La dénitrification	35
4.1.Facteurs influencent la dénitrification	.....
4.2.Zone anoxie en tête	.....
Partie V : Déphosphatation	37
1. Déphosphatation physico-chimique	37
1.1 Sels et réaction	37
1.1.1. <i>Sels d'aluminium</i>	37
1.1.2. <i>Sels de fer</i>	37
1.1.3. <i>Sels de calcium</i>	37
1.2. Inconvénients	37
2. Déphosphatation biologique	38
2.1. Principe	38
2.2.Conditions	38
<b>Chapitre II : Matériel &amp; Méthodes</b>	39-46
Première partie : L'échantillonnage	39
Partie II : Matériels et méthodes pour les analyses bactériologiques	40
1. Matériels courant du laboratoire	40
2. Milieux de cultures	40
2.1. Gélose nutritive	41
2.2. Gélose V.R.B.G.	41
2.3. Gélose Hektoen	41
2.4. Gélose Chapman	41
2.5. Gélose B.C.P.	41
2.6. Gélose à sang frais et Gélose à sang cuit (chocolat)	42
2.7. Gélose Muller Hinton	42
2.8. King A et King B	42
3. Réactifs	42
4. Galeries API 20E et API 20NE	42
5. Disques d'antibiotiques	42
6. Examen microscopique des boues	43
Partie III : Normes et Matériels pour les analyses Physico-chimiques	44
1. Matériels courant du laboratoire	44
2. Mesure de pH	45
3. Mesure de Conductivité	45
4. Mesure d'Oxygène dissous	45
5. Mesure de température	45
6. Test de décantation	45
7. Mesure des Matières En Suspensions (MES)	45
8. Mesure de la DCO	45
9. Mesure de la $\text{DBO}_5$	46
10. Dosage de l'ammonium ( $\text{NH}_4$ )	46
11. Dosage de nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )	46
12. Dosage de nitrites ( $\text{NO}_2^-$ )	46
13. Dosage des ortho-phosphates phosphore ( $\text{PO}_4^{3-}$ )	46
).....	.....
<b>Chapitre III : Résultats &amp; Discussion</b>	47-86
Partie I : Résultats & Discussion Microbiologiques	47

1.	Résultats et discussion bactériologiques .....	47
1.1.	Résultats d'isolement et d'identification .....	47
1.1.1.	Résultats du mois de Mai.....	47
1.1.2.	Résultats du mois de Juin.....	50
1.1.3.	Résultats du mois de Juillet.....	54
1.1.4.	Résultats du mois d'Aout.....	58
1.2.	Résultats des antibiogrammes.....	60
1.2.1.	Résultats du mois de Mai.....	62
1.2.2.	Résultats du mois de Juin.....	63
1.2.3.	Résultats du mois de Juillet.....	64
1.2.4.	Résultats du mois d'Aout.....	65
1.3.	Résultats des examens microscopiques des protozoaires et métazoaires.....	70
<b>Partie II : Résultats et Discussion Physico-chimiques</b> .....		<b>78-86</b>
2.1.	La température.....	78
2.2.	Le pH.....	79
2.3.	La conductivité.....	80
2.4.	Les MES.....	80
2.5.	L'oxygène.....	81
2.6.	La DCO.....	82
2.7.	La DBO <sub>5</sub> .....	83
2.8.	L'ammonium (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ).....	83
2.9.	Les nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ).....	84
2.10.	Les nitrites (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ).....	85
2.11.	Les Ortho-phosphates (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ).....	86
<b>Conclusion</b> .....		<b>87</b>
<b>Perspectives, directives &amp; instructions</b> .....		<b>89</b>
<b>Annexes</b>		
<b>Références bibliographiques</b>		
<b>Résumé</b>		
<b>Abstract</b>		
<b>ملخص</b>		

## Liste des abréviations

<b>A</b>	Age de boue
<b>AARN</b>	Algerian Antimicrobial Resistance Network
<b>ATU</b>	Allyl Thio-Urée
<b>BA</b>	Boues Activées
<b>BB</b>	Bassin Biologique (bassin d'aération + bassin d'anoxie + bassin d'anaérobiose)
<b>BLSE</b>	$\beta$ -Lactamase à Spectre Étendu (enzyme produite par la bactérie, lui permettant de résister à tous les dérivés des pénicillines)
<b>C</b>	Concentration
<b>C</b>	Carbone
<b>C.E.A.E.</b>	Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec
<b>C1G</b>	Céphalosporine de 1ère Génération
<b>C3G</b>	Céphalosporine de 3ème Génération
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Chlore de calcium
<b>Carb</b>	Carboxypénicilline
<b>CBN</b>	Céphalosporinase de Bas Niveau
<b>CF</b>	Coliformes fécaux
<b>CH<sub>4</sub></b>	Méthane
<b>CHN</b>	Céphalosporinase de Haut Niveau
<b>Cit.</b>	Citrate de Simmons
<b>CLSI</b>	Clinical & Laboratory Standards Institute: organisation mondiale, à but non lucratif.
<b>Cm</b>	Charge massique
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de carbone
<b>CT</b>	Coliformes totaux
<b>D.A.P.E</b>	Direction De l'Assainissement et de La Protection de l'Environnement
<b>DBO</b>	Demande Biochimique en Oxygène
<b>DCO</b>	Demande Chimique en Oxygène
<b>EH</b>	Equivalent Habitant
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Fer ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Fer ferrique
<b>g</b>	gramme
<b>Glu.</b>	Glucose
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Acide sulfurique
<b>hab</b>	habitant
<b>IB</b>	Indice de Boue
<b>IMP</b>	Imipenème résistant
<b>j</b>	jour
<b>KCl</b>	Chlore de potassium
<b>KEHS</b>	<i>Klebsiella, Enterobacter, Hafnia et Serratia</i>
<b>Kg</b>	Kilogramme
<b>Km</b>	Kilomètre

<b>Lac.</b>	Lactose
<b>MA</b>	Matières Azotées
<b>MES</b>	Matières En Suspension
<b>ml</b>	Millilitre
<b>MLS</b>	Macrolides, Lincosamides, Synergistine
<b>MO</b>	Matière Organique
<b>MOD</b>	Matière Organique Dissoute
<b>MVS</b>	Matière Volatil en Suspension
<b>N</b>	Azote
<b>N<sub>2</sub></b>	Azote gazeux
<b>NaCl</b>	Chlore de sodium
<b>ND</b>	Non Déterminer
<b>NE</b>	Nord Est
<b>NH<sub>4</sub></b>	Ammonium
<b>nm</b>	nanomètre
<b>NO</b>	Oxydes d'azotes
<b>NO<sub>2</sub></b>	dioxydes d'azotes
<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Nitrite
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Nitrates
<b>NTK</b>	Azote totale de Kjeldahl
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>ONA</b>	Office National d'Assainissement
<b>ONPG</b>	Ortho-Nitrophenyl-β-D-Galactopyraniside
<b>P</b>	Phosphore
<b>P.E.</b>	Prise d'Essai
<b>PBN</b>	Pénicillinase de Bas Niveau
<b>PDA</b>	Potato dextrose agar (Gélose dextrosée à la pomme de terre)
<b>pH</b>	Potentiel d'Hydrogène
<b>PHN</b>	Pénicillinase de Haut Niveau
<b>R</b>	Résistante
<b>RM</b>	Rouge de Methyle
<b>S</b>	Sensible
<b>SO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de soufre
<b>STEP</b>	Station d'Épuration
<b>TAC</b>	Taux d'Alcalinité
<b>TDS</b>	Solides Dissous Totaux
<b>TEM</b>	Les pénicillinases (TEM), ont une résistance d'origine plasmidique, rendent les souches qui en produisent résistantes aux péni G, A et aux Carb mais si le niveau de production est élevé, la résistance s'étend aux acyluréido-pénicillines, aux C1G, C2G et à quelques C3G. TEM est le gène extra-chromosomique qui code pour les molécules de résistance.

<b>TRI</b>	TEM Résistantes aux Inhibiteurs
<b>Ts</b>	Temps de séjour
<b>UNICEF</b>	United Nations International Children's Emergency Fund (Fonds des nations pour l'enfance).
<b>V<sub>30</sub></b>	Volume décanté en 30 minutes
<b>VP</b>	Voges-Proskauer
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>µm</b>	micromètre
<b>µS</b>	micro-Siemens

**Liste des figures**

<b>Fig. 1.1 :</b>	Composition des eaux usées.....	14
<b>Fig. 1.2.:</b>	Photographie d'un ouvrage de relevage.....	18
<b>Fig. 1.3 :</b>	Exemple de configuration d'une station de pompage.....	19
<b>Fig.1.4.:</b>	Dégrilleur droit à nettoyage par l'amont.....	20
<b>Fig. 1.5. :</b>	L'échelle des différentes tailles des particules.....	20
<b>Fig. 1.6 :</b>	Schéma de principe d'un traitement biologique.....	23
<b>Fig. 1.7 :</b>	Les traitements tertiaires.....	24
<b>Fig. 1.8 :</b>	Les flagellés : <i>Monosiga</i> , <i>Poteriodendron</i> , <i>Trepomonas</i> , <i>Pleuromonas</i> ....	26
<b>Fig. 1.9 :</b>	Les ciliés nageurs : <i>Chilodonelle</i> , <i>Paramecie</i> , <i>Blefarisma</i> , <i>Litonotus</i> , <i>Trachelophylum</i> , <i>Colpidum</i> .....	27
<b>Fig. 1.10 :</b>	Les ciliés fixes : <i>Vorticelle</i> , <i>Epistylis</i> , <i>Carchesium</i> , <i>Opercularia</i> .....	28
<b>Fig. 1.11 :</b>	Les ciliés brouteurs : <i>Euplote</i> , <i>Espidisca costata</i> .....	28
<b>Fig. 1.12 :</b>	Les métazoaires : <i>Rotifère digononta</i> , <i>Nématode</i> .....	29
<b>Fig. 1.13 :</b>	Evaluation des microorganismes avec la croissance de A et Cm.....	32
<b>Fig. 1.14 :</b>	Détermination du $V_{30}$ .....	32
<b>Fig. 1.15 :</b>	Les différentes étapes de transformation de MA.....	34
<b>Fig. 1.16 :</b>	Système de nitrification/dénitrification en bassin unique PHOREDOX...36	
<b>Fig. 1.17 :</b>	Système de nitrification/dénitrification en bassin unique PHOREDOX modifié pour cibler une déphosphatation biologique.....	36
<b>Fig. 3.1 :</b>	La structure du bassin de chloration et les points du découpage.....	76

### Liste des histogrammes

<i>Histogramme 1</i> :	Taux d'élimination de la pollution thermique.....	79
<i>Histogramme 2</i> :	Taux de neutralisation du pH.....	79
<i>Histogramme 3</i> :	Taux d'élimination de la conductivité.....	80
<i>Histogramme 4</i> :	Taux d'élimination des MES.....	81
<i>Histogramme 5</i> :	Concentration de l'oxygène dans le bassin d'aération.....	82
<i>Histogramme 6</i> :	Taux d'élimination de la DCO.....	82
<i>Histogramme 7</i> :	Taux d'élimination de la DBO <sub>5</sub> <sup>20</sup> .....	83
<i>Histogramme 8</i> :	Taux d'élimination d'Ammoni.....	84
<i>Histogramme 9</i> :	Taux d'élimination des Nitrates.....	85
<i>Histogramme 10</i> :	Taux d'élimination des Nitrites.....	85
<i>Histogramme 11</i> :	Taux d'élimination d'Ortho-phosphates.....	86

### Liste des tableaux

<b>Tab. 1.1 :</b>	Les valeurs limites des paramètres de rejet dans un milieu récepteur.....	16
<b>Tab. 1.2 :</b>	Points d'opposition et points communs entre nitrification/dénitrification...	36
<b>Tab. 2.1 :</b>	Désignation des prélèvements.....	39
<b>Tab.3.1 :</b>	Les souches identifiées le mois de Mai et leurs profils d'antibiogramme...	50
<b>Tab. 3.2 :</b>	Les souches identifiées le mois de Juin et leurs profils d'antibiogramme...	53
<b>Tab. 3.3 :</b>	Les souches identifiées le mois de Juillet et leurs profils d'antibiogramme	56
<b>Tab. 3.4 :</b>	Les souches identifiées le mois d'Aout et leurs profils d'antibiogramme...	59
<b>Tab. 3.5 :</b>	Souches identifiées par galeries API.....	66
<b>Tab. 3.6 :</b>	Directives pour la qualité de l'eau usée utilisée pour l'irrigation en Chypre	68
<b>Tab. 3.7 :</b>	Les phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches apparaissant pendant toute l'étude avec les pourcentages d'apparition.....	70
<b>Tab. 3.8 :</b>	Morphologie et Interprétation de présence dans la boue des protozoaires et métazoaires rencontrés.....	72
<b>Tab. 3.9 :</b>	Inventaire des protozoaires et métazoaires rencontrés dans la boue de la STEP de Tinguad.....	74
<b>Tab. 3.10 :</b>	Les résultats du découpage du bassin de chloration réalisé le samedi 04 Juin 2011.....	76

## Introduction et objectifs du travail

L'eau est une ressource indispensable à toutes les formes de vie et aux écosystèmes de la Terre. De plus, c'est un élément clé pour la santé humaine, l'agriculture et l'industrie. Bref, l'eau est vitale (**Grosclaude, 1999 ; Gomez *et al.*, 2002 ; Blanchon & Aurélie, 2009**).

L'eau recouvre plus que les deux tiers de la superficie du globe, mais malheureusement cette eau est salée et donc non potable et ne convient pas à l'irrigation. L'eau douce, représente 3% de l'eau totale de notre planète. Dans ce faible pourcentage, les rivières et les lacs représentent 0,3%, alors que tout le reste est stocké dans les glaciers polaires (**Gaujous, 1995 ; Ramade, 2005 ; Hernández, 2006**).

La révolution industrielle du 19<sup>ème</sup> siècle, en valorisant la vapeur de l'eau, a permis le développement de la capacité de production : l'eau est devenue une matière indispensable au fonctionnement des usines (**Blanchon & Aurélie, 2009**).

Aujourd'hui, l'eau est devenue encore plus importante qu'elle ne l'était dans le siècle passé. La répartition des ressources en eau douce dans le monde est très inégale. Les régions du monde les plus pauvres en eau douce sont le Proche-Orient et l'Afrique (**Ramade, 1998**).

Les causes de la diminution de l'eau douce disponible sont multiples. Parmi les plus importantes, on trouve le taux actuel d'accroissement démographique, les usages domestiques, la consommation accrue de l'eau par l'agriculture, la pollution industrielle, ... etc. (**Paquerot, 2007**).

Parallèlement à cette situation, les phénomènes qui contribuent à la dégradation de la qualité de l'eau et par suite à la perturbation de tout l'écosystème se multiplient et s'intensifient. Le rejet des eaux usées chargées en substances polluantes, dans le milieu récepteur sans aucun traitement préalable, est un motif de préoccupation croissante compte tenu des effets indésirables que ces eaux peuvent engendrer sur l'environnement et sur la santé (**Rejsek, 2002 ; Journal officiel de la République Algérienne, 2005 ; Tarmou, 2007**).

Donc ces rejets doivent être traités avant leur déversement dans le milieu récepteur.

Le traitement des eaux usées a pour but de les dépolluer suffisamment pour qu'elles n'altèrent pas la qualité du milieu naturel dans lequel elles seront finalement rejetées (**Tarmou, 2007**).

## Introduction générale & objectifs du travail

---

Dès l'arrivée à la station d'épuration (STEP) jusqu'au rejet naturel, le traitement comporte plusieurs étapes (le relevage, le prétraitement, les traitements biologiques, la clarification, la sortie en rivière) (**Gaujous, 1995 ; Desjardins, 1997 ; D.A.P.E., 2006**).

L'objectif de ce travail réalisé aux différents laboratoires est la nature des eaux usées de la ville de Timgad du point de vue bactériologique et physico-chimique, l'efficacité du traitement de la STEP et l'évaluation du traitement depuis l'input et jusqu'à l'output.

En premier lieu, on a établi des analyses microbiologiques et physico-chimiques pour voir un aperçu sur la nature du milieu dans le quel vit cette flore microbienne et vérifier la qualité des eaux après traitement. Par conséquent une idée globale sur l'efficacité du traitement depuis son entrée à la STEP et jusqu'à sa sortie est possible.

En deuxième lieu, diagnostiquer les points critiques de la chaîne d'épuration et proposer des suggestions et perspectives possibles.

## Première partie : Historique & Généralités

### 1. Historique de l'épuration des eaux

Au Moyen-âge, les rues des villes sont couvertes de déchets. La plupart des sources d'eau potable sont polluées et les épidémies sont courantes. Au 19<sup>ème</sup> siècle enfin, des égouts recueillent les déchets cheminés vers des champs d'épandage et les rivières. La pollution concentrée à cet endroit doit être éliminée. Les techniques évoluent alors rapidement pour aboutir aux stations d'épuration actuelles où des micro-organismes nous rendent de précieux services (**Véronique, 2004; Bolet & Fonnesbech, 2009 ; Lionel & Nicolas, 2010**).

Cette situation durera de nombreux siècles encore. Les épidémies en ville sont fréquentes. La peste, le choléra et la typhoïde tuent des dizaines de milliers de personnes tous les ans. Le simple fait de boire de l'eau est risqué. En ville, les sources d'eau potable et les cours d'eau sont contaminés par les infiltrations et les écoulements. À la fin du 18<sup>ème</sup> siècle, Napoléon I<sup>er</sup> fait transporter de l'eau propre à Paris par le canal de l'Ourcq (**Michèle, 2011**). Mais, c'est surtout avec Napoléon III que les choses vont véritablement changer, d'abord dans la capitale puis dans les autres villes. Des aqueducs sont construits pour apporter de l'eau propre de plus loin encore. Le baron Haussmann et l'ingénieur Belgrand vont se charger de débarrasser les rues de la capitale de tous ces rejets polluants. Pour cela, ils vont créer tout un réseau d'égouts sous les grandes avenues afin de collecter les eaux usées. Les citadins peuvent enfin se promener sur des trottoirs larges et propres en toute sécurité (**Lionel & Nicolas, 2010; Michel, 2011**).

#### 1.1. Lutter contre les odeurs

Les eaux usées sont la plupart du temps dirigées jusqu'à des champs d'épandage. Si les rues sont maintenant plus propres, la pollution se concentre là où les égouts la transportent : dans les champs d'épandage et dans les fleuves. Des odeurs nauséabondes se répandent aux alentours et les pouvoirs publics tentent de les limiter. C'est à ce moment que sont lancées les premières techniques consistant à ajouter aux eaux usées des produits chimiques et à séparer les déchets solides. Ceux-ci pourront alors être récupérés et utilisés comme fertilisants des terres agricoles. De ces premiers essais, seule la décantation sera conservée dans les traitements appliqués actuellement aux eaux usées urbaines (**Bliefert & Perraud, 2001 ; Roger, 2001 ; Zaza, 2004**).

À la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, de nombreuses villes européennes sont dotées de champs d'épandage des eaux usées. Les connaissances en microbiologie se développent avec les travaux de Pasteur, on comprit alors que les micro-organismes étaient responsables de la dégradation de la MO. Cette capacité d'élimination des matières biodégradables est utilisée dans les stations d'épuration

biologique. Dès 1914, des scientifiques anglais présentent un système de bassin où les eaux usées sont aérées pour permettre leur dégradation par les micro-organismes présents dans les eaux usées par voie aérobie (**Bechac *et al.*, 1987 ; Anton & Henri, 2011**).

### **1.2. Epurer l'eau par des boues activées**

Dans ce bassin, les eaux usées produisent des sortes de boues qui sédimentent lorsqu'on cesse de les agiter. L'idée originale a été de concentrer ces boues dans le bassin tout en les aérant. Faites de micro-organismes, elles vont accélérer la dégradation des matières biodégradables. Elles sont comme «activées». Voilà, elles porteront désormais le nom de boues activées (BA). Ce procédé va se développer en Europe et aux États-Unis pour l'épuration des eaux usées des grandes villes (**Henrie, 2010; Michèle, 2011**).

Les boues activées éliminent, avec la MO, un peu d'azote et de phosphore. Avec le temps, des conditions opératoires ont été définies pour permettre le développement de bactéries capables de traiter l'azote et le phosphore ont été définies. De nos jours, de plus en plus de stations d'épuration assurent un traitement du carbone, de l'azote et du phosphore. Les eaux usées non traitées ne devraient jamais rejoindre le milieu naturel hors circonstances exceptionnelles (**Christian, 2003 ; Pierre, 2005 ; René, 2011**).

Donc, le traitement biologique des eaux usées urbaines devient une application biotechnologique que les premières réalisations à caractère industriel datent de la fin du 20<sup>ème</sup> siècle pour les cultures en suspension (**Olivier, 2005 ; René, 2012**).

## 2. Généralités sur les eaux

### 2.1. Cycle de l'eau

L'eau parcourt un cycle éternel. Chauffée par le soleil, l'eau des océans, des mers, des rivières et des lacs s'évapore. A ce volume s'ajoute la vapeur d'eau issue de l'évapotranspiration des plantes. Toute cette vapeur d'eau provoque la formation, dans la haute atmosphère, des nuages qui, par condensation se transforment en précipitations (pluie, neige, grêle) ou de brouillard. La plus grande partie de l'eau tombe directement dans les océans. Le reste atteint les continents, où 60% s'évapore à nouveau, seul 25% s'infiltré dans la terre et alimente les nappes souterraines. Enfin, 15% ruisselle et rejoint les cours d'eau ... pour retrouver ensuite l'océan, puis le cycle recommence (**King et al., 1995 ; Mary et al., 1997 ; Gomez et al., 2003**).

### 2.2. Sources principales d'eaux brutes

On retrouve quatre sources principales d'eaux brutes. Les caractéristiques générales de chacune de ces sources reflètent l'interaction de l'eau et du milieu environnant (**Ollivon et al., 1998**).

#### 2.2.1. Eaux de pluie

Les eaux de pluie sont habituellement des eaux de bonne qualité. Ce sont également des eaux douces, ne contiennent pas des sels de calcium, de magnésium, de fer ou de manganèse. Ces eaux sont saturées en oxygène ( $O_2$ ), en azote, ( $N_2$ ) et en dioxyde de carbone ( $CO_2$ ) (**Beaudoin & al., 2002 ; Hem John, 2003 ; Ford & Naiman Robert , 2011**).

Cependant, dans les régions industrielles, les eaux de pluie peuvent être contaminées par des poussières atmosphériques et des gaz tels que le monoxyde de carbone (CO), le dioxyde de soufre ( $SO_2$ ), les oxydes d'azotes, NO et  $NO_2$ , et l'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) (**Koller, 2004 ; Boman, 2007 ; Bommelaer & Devaux, 2011**).

#### 2.2.2. Eaux de surface

Les eaux de surface peuvent être réparties en trois catégories : les eaux des rivières (parties amont et aval) et les eaux des lacs, (**Ford & Naiman Robert, 2011**) que nous détaillons ci-dessous:

#### 2.2.3. Eaux de rivière (partie amont)

Dans la partie amont d'un cours d'eau, la population est peu dense, et la forêt et les terres cultivées couvrent une bonne proportion de la région. Les eaux, dont le régime d'écoulement est turbulent, sont bien souvent turbides, étant donné qu'elles transportent de grandes quantités de matières en suspension. L'indice de couleur est faible ainsi que la contamination bactérienne (**Leclerc et al.,**

1995). La pollution causée par l'homme ou l'industrialisation y est pratiquement inexistante (Raymond, 1997 ; Mahé, 2000 ; Chippaux *et al*, 2002).

### 2.2.4. Eaux de rivière (partie Aval)

Dans la partie aval d'un cours d'eau, la population est plus dense, les terres sont cultivées et des industries sont implantées. Les eaux y sont donc de moins bonne qualité et plus difficile à traiter qu'en amont (Raymond, 1997).

C'est là que l'installation d'une station d'épuration est primordiale, pour que l'eau peut atteindre sa destinée finale sans être nuisible pour le milieu naturel (Probst, 1990).

## 3. Composition et paramètres de qualité de l'eau

Les paramètres de contrôle de la qualité de l'eau peuvent être répartis en six groupes essentiels :

### 3.1. Paramètres physico-chimiques

Il s'agit de la transparence, la couleur, l'odeur et la saveur de l'eau (Bousquet *et al*, 1984). Ils n'ont pas de signification sanitaire mais la dégradation de l'une de ces caractéristiques peut signaler une pollution ou un mauvais fonctionnement des installations. L'eau doit être limpide, claire, aérée et ne présente ni saveur ni odeur désagréables (Nadot, 1995 ; Chippaux *et al.*, 2002 ; Zaza, 2004 ; Collin, 2007 ; Coulomb, 2011 ).

#### 3.1.1. Température

La température de l'eau a une influence sur ses propriétés physiques et chimiques. Ainsi, toute variation de température de l'eau entraîne une modification du comportement des traitements qui lui sont appliqués (coagulation, floculation, décantation, filtration, désinfection et oxygénation). Il est donc important de connaître la température de l'eau et ses variations saisonnières, afin de pouvoir optimiser les traitements (Bechac *et al.*, 1987 ; Delion *et al.*, 2004; Mauguin *et al.*, 2004).

#### 3.1.2. Potentiel Hydrogène (pH)

Le pH mesure la concentration en ions  $H^+$  de l'eau. L'échelle des pH s'étend en pratique de 0 à 14 ; la valeur médiane 7 correspond à une solution neutre à 25°C. Le pH d'une eau naturelle peut varier de 4 à 10 en fonction de la nature acide ou basique des terrains traversés. Des pH faibles (eaux acides) augmentent notamment le risque de présence de métaux sous une forme ionique plus toxique. Un pH inférieur à 5 ou supérieur à 9, réduit considérablement le nombre d'espèces végétales et animales. Généralement, le développement optimal est obtenu lorsque la valeur du pH s'étend entre 6.5 et 8.5 (Lacroix, 1985 ; OMS, 1993 ; Roche *et al.*, 2012).

### 3.1.3. Conductivité / Salinité / Solides Dissous Totaux (T.D.S.)

La mesure de la conductivité de l'eau nous permet d'apprécier la quantité des sels dissous dans l'eau (chlorures, sulfates, calcium, sodium, magnésium...) (**Bonnin & Laplanche, 1991**). Les mesures de conductivité, salinité et de Solides Dissous Totaux (T.D.S.) sont importantes pour leur effet sur la corrosion de l'eau. En général, plus ces facteurs sont élevés, plus l'eau est corrosive (**Job et al., 1987 ; Hsissou et al., 1999 ; El Achheb et al., 2001 ; Taha, 2002**).

### 3.1.4. Turbidité

La turbidité est une propriété optique puisque la diffusion de la lumière par les particules dans l'eau lui donne son degré de transparence. Elle est causée par diverses matières particulaires ou colloïdales composées de limon, d'argile, de composés organiques ou inorganiques ainsi que du plancton et d'autres microorganismes (**Bliefert & Perraud, 2001**).

Les sources des matières particulaires peuvent être d'origine naturelle (particules provenant de la dégradation des végétaux ou de l'érosion du sol) ou anthropique (rejets industriels, agricoles et urbains) (**Gomez et al., 2002 ; Aumond & Joannis, 2006 ; Ruban et al., 2006**).

### 3.1.5. Matière organique (MO)

La MO peut être présente sous forme dissoute (carbohydrates, acides humiques, pigments et composés d'origine artificielle tels que les hydrocarbures, les solvants chlorés,...) ou en suspension (déchets végétaux, plancton...etc.) (**Legube et al., 1990 ; Bonnin & Laplanche, 1991 ; Lafont & Durbec, 1996 ; Donatienne et al., 1998**).

La MO nécessite une caractérisation précise à fin de comprendre ses origines (**Arrouays et al., 2003**), les mécanismes de sa genèse et de déterminer ses différents rôles environnementaux au sein d'écosystèmes aquatiques naturels (**Gaujous, 1995**). Cependant, l'étude et l'identification des divers constituants de cette matrice constituent une tâche très délicate à cause de leur nombre et leur hétérogénéité, c'est pourquoi de nombreuses techniques analytiques et procédures opératoires ont été développées (**Mustin, 1987**).

Les impacts des MO sur les eaux réceptrices sont :

D'une part, l'induction d'une consommation d'oxygène qui conduit à l'anoxie des eaux.

Et leur mode d'élimination lors des processus de traitement biologique, d'autre part.

Leur présence sous formes extrêmement diverses peut être définie par un paramètre global : la demande en oxygène (**Bechac et al., 1987 ; Mustin, 1987 ; Croue, 1999**).

Celle-ci est déterminée par un essai biologique normalisé en 5 jours à une température de 20°C appelée la demande biologique en oxygène  $DBO_5^{20}$  (Guyard, 2007 ; C.E.A.E. Québec, 2012).

Une autre méthode consiste à procéder plus rapidement, à une oxydation chimique assez complète permettant d'évaluer la demandes chimique en oxygène ; la DCO (Bliefert & Perraud, 2001).

D'autres méthodes encore existent, mais toutes permettent d'évaluer indirectement la quantité de MO présentes dans les eaux usées (Croue, 1999).

Bien sûr les MO sont présentes sous différentes formes physiques : particulaires, colloïdales, dissoutes, et elles sont plus au moins rapidement biodégradables. Ces états ne seront pas indifférents pour la manière selon laquelle elles seront éliminées : par séparation, adsorption, assimilation ou oxydation. Des méthodes peuvent mieux définir ces différentes fractions apparaissent et assurent une meilleure compréhension des processus (Nisbet & Verneaux, 1970 ; Wetzel & Murray, 1987 ; Chippaux *et al.*, 2002 ; Guyard, 2007).

La MO joue un rôle essentiel dans l'environnement. Elle constitue le substrat indispensable au développement de la vie biologique, car elle est une source majeure de carbone et d'énergie pour les micro-organismes (Ford & Naiman Robert, 2011).

Elle joue également un rôle important dans la chimie des eaux en tant qu'électrolyte dans les réactions acido-basique, ainsi que dans les réactions de dissolution/précipitation des minéraux (Mustin, 1987 ; Bliefert & Perraud, 2001).

En s'adsorbant sur les particules, elle conditionne en grande partie leurs propriétés de surface qui contrôlent la solubilité de nombreux polluants, qu'ils soient organiques (pesticides) ou inorganiques (métaux lourds) (Beaudoin *et al.*, 2002).

La MO Dissoute (MOD) est opérationnellement distinguée par une filtration à 0,45  $\mu\text{m}$ . La MOD dans les systèmes aquatiques est constituée d'un mélange extrêmement complexe de molécules dont la majorité n'est pas structurellement identifiée à l'heure actuelle (Gaujous, 1995 ; Filella, 2008).

La MO peut être classifiée en deux catégories selon sa provenance :

### 3.1.5.1. Matière organique autochtone

Elle est produite par la faune et la flore aquatique et s'identifie principalement aux produits de la photosynthèse des organismes vivants (macro- et micro- algues, autres microorganismes aquatiques), les molécules issues directement de leurs métabolismes, ainsi que la MO morte provenant de la dégradation des végétaux par les organismes aquatiques vivants (Nisbet & Verneaux, 1970 ; Probst, 1990 ; Gaujous, 1995 ; Achoura & Belhamra, 2010).

### 3.1.5.2. Matière organique allochtone

Elle s'identifie surtout aux produits naturels, feuillage, herbes et poussières apportées par le vent, la pluie, la neige et les ruisseaux, aussi aux effluents industriels, agricoles et domestiques (**Gomez et al., 2002 ; Wu et al., 2008**). Généralement, le rapport carbone-azote permet de différencier les substances allochtones des substances autochtones. Un rapport C/N d'environ 50:1 est typique pour les substances allochtones tandis qu'un rapport de 12:1 est plus représentatif des substances autochtones (**Wetzel, 1987 ; Ford & Naiman Robert, 2011**).

### 3.1.6. Matières azotées (MA)

Les MA présentes dans les eaux usées sont essentiellement les composés protéiniques plus au moins hydrolysés et l'ammonium, produit de l'hydrolyse de l'urée, qui est généré rapidement dans les réseaux d'assainissement (**Rodier et al., 2009 ; Henrie, 2010**).

#### 3.1.6.1. Nitrates

La présence de nitrates dans l'eau est un indice de pollution d'origine agricole, urbaine (dysfonctionnement des réseaux d'assainissement) ou industrielle (**Beaudoin et al., 2002 ; Gomez et al., 2002 ; Henrie, 2010**).

Les effets des nitrates sur la santé sont liés à leur transformation en nitrites et éventuellement en nitrosamines au niveau du tube digestif (**Chippaux et al., 2002**).

Chez l'homme, les nitrites sont responsables des risques de méthémoglobinémie aiguë (inhibition du transfert de l'oxygène vers les cellules) qui s'observe principalement chez le nourrisson. Pour que des eaux peuvent être qualifiées de potables, l'OMS recommande des teneurs en nitrates ne dépassant pas 50 mg/l (**Tandia et al., 1997 ; Chippaux et al., 2002 ; Beaudoin et al., 2002 ; Giroux et al., 2003 ; Peñuelas et al., 2009**).

#### 3.1.6.2. Nitrites

Suivant l'origine des eaux, la teneur en nitrites est assez variable. Sous l'action des phénomènes biologiques, l'équilibre entre l'ammoniacque, les nitrites et les nitrates peut évoluer rapidement. Il convient donc de procéder au dosage des nitrites le plus tôt possible après le prélèvement en le conservant à 4°C (**Gilles et al., 1998 ; Chippaux et al., 2002 ; Giroux et al., 2003 ; Peñuelas et al., 2009**).

### 3.1.6.3. Ammonium

L'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4$ ) traduit un processus d'ammonification de la MA organique (**Boussaid et al, 1988 ; Cabon, 1993 ; Gilles et al, 1998 ; Peñuelas et al, 2009**). Les ions ammoniums subissent une nitrification par action des bactéries nitrifiantes (**Leclerc et al., 1995**).

### 3.1.7. Matières phosphorées

Le phosphore se trouve également dans les MO mais aussi encore dans les polyphosphates des produits lessiviels et sous formes d'orthophosphates des effluents des sols agricoles qui contiennent des résidus d'engrais (**Nisbet & Verneaux, 1970 ; Valentin, 1984 ; Gilles et al., 1998 ; Croue, 1999 ; Gomez et al., 2002 ; Michel, 2011**).

### 3.1.8. Fer

Le fer est présent dans l'eau sous trois formes : le fer ferreux  $\text{Fe}^{2+}$ , le fer ferrique  $\text{Fe}^{3+}$  et le fer complexé à des MO et minérales (**Overnell et al., 1996 ; Croue, 1999 ; Hem John, 2003**).

Dans les eaux bien aérées, le fer ferreux est oxydé en fer ferrique qui précipite sous forme d'hydroxyde,  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  (**Brion, 1980 ; Jeanine et al., 1980 ; Overnell et al., 1996**).

Dans les eaux souterraines, au contraire, l'absence d'oxygène fait augmenter la concentration du  $\text{Fe}^{2+}$  soluble en solution (**Hem, 1977 ; Overnell et al., 1996**). La présence du fer dans l'eau provient principalement : du lessivage des sols, avec dissolution des roches et minerais, de la corrosion des canalisations métalliques, de l'utilisation de sels ferriques comme coagulants et des rejets des secteurs industriels qui traitent le fer (**Sarazin, 1982 ; Overnell et al., 1996 ; Hem, 2003**).

Pour des raisons de qualité organoleptique, la concentration du fer dans l'eau est fixée de  $\leq 0,3$  mg/l (**OMS 2004 ; Cyriaque et al., 2008**).

### 3.1.9. Manganèse

Cet élément se trouve dans l'eau à l'état soluble, en suspension ou sous forme de complexe. Il ne présente aucun caractère de toxicité prouvé. Cependant et pour des raisons d'ordre organoleptique, la concentration de manganèse dans l'eau a été fixée à une valeur  $\leq 0,05$  mg/l (**OMS 2004**).

La présence de cet élément dans les approvisionnements d'eau est indésirable pour plusieurs raisons: à des concentrations supérieures à 0,15 mg/l, le manganèse tache les tissus et les éléments de plomberie; de plus, en fortes concentrations, il donne un mauvais goût (**OMS, 2011**).

Comme le fer, il peut causer des problèmes dans les réseaux de distribution en y favorisant la croissance de microorganismes. Même à des concentrations inférieures à 0,05 mg/l, le manganèse

peut former dans la tuyauterie des dépôts qui peuvent se présenter sous la forme de précipités noirs (**Desjardins, 1997**).

### 3.1.10. Cuivre

L'objectif de qualité esthétique pour le cuivre présent dans l'eau est de  $\leq 1,0$  mg/l; cet objectif a été fixé pour assurer la potabilité de l'eau et pour réduire au minimum les taches sur la lessive et les accessoires de plomberie. Le cuivre est un élément essentiel pour le métabolisme humain et il est bien connu que sa carence entraîne divers troubles cliniques, notamment l'anémie nutritionnelle chez les nourrissons (**Odier & Plichon, 2001 ; Cyriaque et al., 2008**).

### 3.1.11. Chlorure

Les chlorures sont très répandus dans la nature sous forme de sels de sodium (NaCl), de potassium (KCl) et de calcium (CaCl<sub>2</sub>). La présence de l'ion chlorure (Cl<sup>-</sup>) dans l'eau peut avoir diverses origines, telles que le passage à travers des terrains salés, l'exploitation des puits de pétrole (**Pettyjohn-Wayne, 1973 ; 1982 ; Bonnin & Laplanche, 1991**), l'épandage de sel sur les routes pour faire fondre la glace et la neige (**Charbonneau, 2005 ; Bolet & Fonnesbech, 2009**).

Il n'y a pas de normes concernant les chlorures dans l'eau. Cependant, si la teneur est supérieure à 250 mg/l, elle affecte alors le goût de l'eau surtout lorsqu'il s'agit de chlorure de sodium (**Bonnin & Laplanche, 1991**). En plus de telles concentrations peuvent provoquer la corrosion du système de distribution (**Doré, 1989**). La capacité que possède l'ion chlorure de former des sels solubles avec de nombreux ions métalliques empêche la formation de films pouvant limiter la corrosion des surfaces métalliques (**Legube et al, 1990 ; Bonnin & Laplanche, 1991 ; Taha, 2002 ; OMS, 2011** ).

### 3.1.12. Fluore

Le fluor est un élément indispensable à l'homme. Il est présent dans pratiquement tous les tissus et en particulier dans l'os, le cartilage, l'émail dentaire et la thyroïde (**John et al., 2010**).

La plus grande partie du fluor absorbé se fixe sur l'émail dentaire, ce qui explique son importance dans la formation et la santé des dents (**Mountadar, 2010**).

L'ingestion par l'eau constitue la voie principale d'apport du fluor à l'organisme, les aliments en apportant très peu (**OMS, 2010 ; 2011**).

Un excès de fluor entraîne des fluoroses dentaires (tâches sur l'émail) et osseuses (déformations articulaires), la raison pour laquelle la concentration maximale acceptable de fluorure dans l'eau est fixée à 1,5 mg/l (**Abdoulaye et al., 1998 ; OMS, 2010 ; 2011**).

### 3.1.13. Pesticides et produits apparentés

Ce sont des substances chimiques, utilisées en agriculture, destinés à la protection et l'amélioration de la production végétale et à la préservation des récoltes. Cependant, leur utilité est contrebalancée par leur nocivité vis à vis de l'environnement (**Barriuso et al., 1996 ; Bliefert & Perraud, 2001 ; Beaudoin et al., 2002 ; Bruchet et al., 2003**).

### 3.2. Paramètres bactériologiques

Les bactéries sont couramment recherchées dans l'eau, principalement comme témoin de contamination fécale (**Gaujous, 1995**).

L'OMS (1979) a choisi plusieurs témoins répondant à certaines exigences ; il s'agit des coliformes, des streptocoques fécaux du groupe D de **Lancfield (1933)**, et parfois les *Clostridium perfringens*.

La raison de ce choix réside dans le fait que la numération de ces bactéries est beaucoup plus simple et rapide entre 24 et 48h, que celle des germes pathogènes ; ces derniers nécessitent généralement plusieurs jours d'incubation avec identification sérologique (**Gauthier & Pietri, 1989 ; Leclerc et al., 1995**).

#### 3.2.1. Coliformes totaux (CT)

Les coliformes sont des bâtonnets, anaérobies facultatifs, Gram- non sporulants permettant l'hydrolyse du lactose à 35°C (**OMS, 1979**).

Les coliformes regroupent les genres *Echerichia*, *Citrobacter*, *Entérobacter*, *Klébsiella*, *Yersinia*, et *Serratia* (**Rodier et al., 2009 ; Joly & Reynaud, 2003**).

La recherche et le dénombrement de l'ensemble des coliformes CT, sans préjuger de leur appartenance taxonomique et de leur origine, est capital pour la vérification de l'efficacité d'un traitement désinfectant et est d'un intérêt nuancé pour déceler une contamination d'origine fécale (**Bechac et al., 1987 ; Rodier et al., 2009**).

#### 3.2.2. Coliformes fécaux (CF)

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous groupe des CT capable de fermenter le lactose à une température de 44°C. Ce sont des bâtonnets Gram-, aérobies et facultativement anaérobies ; non sporulants, on les désigne souvent sous le nom d'*Escherichia coli* bien que le groupe comporte plusieurs souches différentes (*Citrobacter freundii*, *Entérobacter aérogènes*, *Klebsiella pneumoniae* ...etc.) (**OMS, 1979 ; Rodier et al., 2009 ; Joly & Reynaud, 2003**).

### 3.2.3. *Streptococcus fécaux*

Sont considérées comme streptocoques fécaux, toutes les bactéries Gram+ de forme oblongue ou de cocci légèrement ovales (OMS, 1979). Ils se disposent, le plus souvent, en diplocoques ou en chainettes (Leclerc *et al.*, 1995 ; Joly & Reynaud, 2003).

Selon la classification sérologique de Lancefield (1933), 5 espèces sont reconnues parmi les streptocoques fécaux (streptocoques du groupe D). Il s'agit de : *S. bovis*, *S. equinus*, *S. avium*, *S. faecalis* et *S. faecium*, car les autres streptocoques ont une origine fécale douteuse.

### 3.2.4. *Clostridium sulfito-réducteurs*

Ils peuvent être considérés comme des germes fécaux ; ce sont aussi des germes telluriques, et de ce fait, aucune spécificité d'origine fécale ne peut être attribuée à leur mise en évidence. Dans une telle optique d'interprétation, il y a intérêt à ne chercher que les espèces les plus susceptibles d'être fécales, c'est le cas en particulier de *Clostridium perfringens* (Rodier *et al.*, 2009). *Clostridium perfringens* sont des bâtonnets anaérobies, Gram+, sporulants et réduisent les sulfites en sulfures en 24 à 48 heures (OMS, 1979).

Ils sont excrétés par l'homme et les animaux, on les trouve régulièrement dans les matières fécales humaines, leur densité est 106 à 108 UFC/g dans les excréments humains; et 103 UFC/ml dans les eaux usées non traitées. (OMS, 1979).

Ils sont pris comme indicateurs dans l'étude des pollutions littorales pour un certain nombre de raisons (OMS, 1979) :

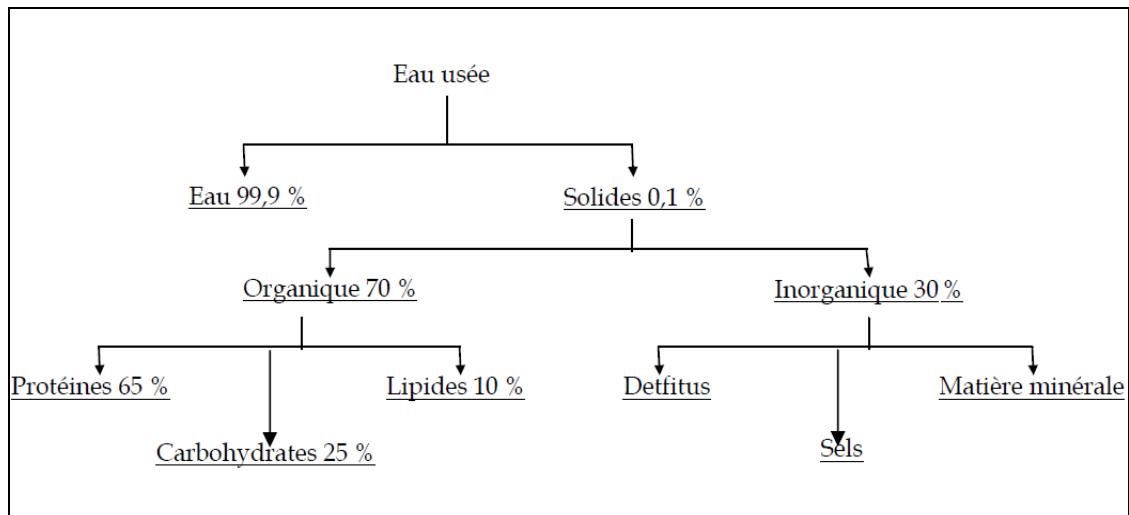
- Ils se trouvent en abondance dans les eaux usées qui sont principalement d'origine humaine ;
- Ils ne se multiplient pas dans les sédiments ;
- Ils survivent longtemps dans les sédiments, ce qui permet de déceler une pollution ancienne ou intermittente (Rodier *et al.*, 2009).

L'objectif est de déterminer toute sorte de bactéries cultivables dans le laboratoire pour définir la qualité microbiologique de l'eau épurée et non épurée.

## 4. Eaux usées

### 4.1. Définition

Les eaux usées sont toutes les eaux qui parviennent dans les canalisations d'eaux usées dont les propriétés naturelles sont transformées par les utilisations domestiques, les entreprises industrielles, agricoles et autres. On englobe, aussi, les eaux de pluie qui s'écoulent dans ces canalisations, voir **Fig. 1.1** (Gomez *et al.*, 2002 ; Bliefert & Perraud, 2001 ; Koller, 2004).



**Fig. 1.1** : Composition des eaux usées (D'après Zorzi & Reina, 1964 modifié par, Needham, 2010).

### 4.2. Origine et composition des eaux usées

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

#### 4.2.1. Eaux usées domestiques

Elles proviennent des différents usages domestiques de l'eau. Elles sont essentiellement porteuses de pollution organique. Elles se répartissent en eaux ménagères, qui ont pour origine les salles de bains et les cuisines, généralement chargées de détergents, de graisses, de solvants et de débris organiques. Eaux de vannes ; il s'agit des rejets des toilettes chargés de diverses MA et de germes fécaux (Gomella & Guerree, 1978 ; Croue, 1999 ; Grosclaude, 1999 ; Chippaux *et al.*, 2002).

#### 4.2.2. Eaux industrielles

Elles sont très différentes des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre (Koller, 2004). En plus de MO, MA et phosphorées, d'après Gaujous (1995), elles peuvent également contenir :

- Des graisses (industries agroalimentaires, équarrissage) ;
- Des hydrocarbures (raffineries) (**Donatienne et al., 1998**) ;
- Des métaux (traitements de surface, métallurgie) ; (**Bliefert & Perraud, 2001**).
- Des acides, des bases et divers produits chimiques (industries chimiques divers) ;
- De l'eau chaude (circuit de refroidissement des centrales thermiques) (**Koller, 2004**);
- Des matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs).

Dans certains cas, avant d'être rejetées dans les réseaux de collecte, les eaux industrielles doivent faire l'objet d'un prétraitement de la part des industriels. Elles ne sont mêlées aux eaux domestiques que lorsqu'elles ne présentent plus de danger pour les réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des STEP (**Bechac et al., 1987 ; Koller, 2004**).

### 4.2.3. 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 ; Beaudoin et al., 2002 ; Gomez et al., 2002**).

### 4.3. L'équivalent habitant (EH)

Un équivalent habitant correspond à la pollution quotidienne que génère un individu. Chacun est sensé utiliser 180 à 300 l d'eau par jour.

La quantité de pollution journalière produite par un individu est estimée à 57 g de matières oxydables, 90 g de matières en suspension (MES), 15 g de MA, et 4 g de matières phosphorées. Enfin, la concentration des germes est généralement de l'ordre de 1 à 10 milliards de germes pour 100 ml (**Badia-Gondard, 2003**).

### 4.4. Septicité des eaux

Au cours de leur séjour dans les égouts, les eaux usées peuvent entrer en fermentation (absence d'oxygène) et devenir septiques, la plupart du temps parce qu'elles séjournent trop longtemps. Dégagement d'odeurs : méthane (CH<sub>4</sub>) et hydrogène sulfuré (H<sub>2</sub>S). L'activité bactérienne peut se trouver profondément altérée par de tels effluents dont le potentiel d'oxydoréduction devient négatif.

Ces effluents septiques entraînent la formation de bactéries filamenteuses qui ne décantent pas et altèrent gravement le fonctionnement des clarificateurs (**Williams & Unz, 1985**).

#### 4.5. Qualité de l'effluent

Pour un bon traitement biologique l'effluent idéal doit être conforme aux critères suivants après traitement:

- Biodégradable:  $DCO/DBO_5 < 3$  (Guyard, 2007 ; C.E.A.E., 2012) ;
- Equilibré :  $DBO_5 / N / P = 100 / 5 / 1$  (Guyard, 2007) ;
- Neutre :  $6,5 < pH < 8$  ;
- Non septique ;
- Tempéré :  $10^\circ C < T^\circ C < 25^\circ C$  (Bechac et al., 1987).

#### 5. Normes algériennes de rejet d'effluents

Les eaux usées collectées, dans les réseaux urbains ou les eaux usées directement émises par les industries, ne doivent pas être rejetées dans un milieu récepteur naturel (rivière, lac, littoral marin, ou terrain d'épandage) que lorsqu'elles correspondent à des normes fixées par voie réglementaire.

Le Décret exécutif n° 93-160 du 10 Juillet 1993, du Journal Officiel de la République Algérienne réglementant les rejets d'effluents liquides dans son chapitre I, article 2, définit un rejet comme tout déversement, écoulement, jets, dépôts directs ou indirects d'effluents liquides dans le milieu naturel et fixe, en son annexe, les valeurs limites de ce rejet.

Ces mêmes valeurs viennent d'être renforcées par un nouveau texte réglementaire ; le Décret Exécutif n° 06-141 du 20 Rabie El Aouel 1427 correspondant au 19 Avril 2006, section 1, article 3. Les valeurs limites maximales de rejet d'effluents fixées par ces deux décrets sont regroupées dans **Tab. 1.1.**

**Tab. 1.1 :** Les valeurs limites des paramètres de rejet dans un milieu récepteur (**Décret exécutif n° 93-160 du 10 Juillet 1993 ; Journal Officiel de la République Algérienne, 2006**).

PARAMÈTRES	UNITÉS
Température °C	30
pH	6,5 à 8,5
MES mg/l	35
DBO <sub>5</sub> mg/l	35
DCO mg/l	120
Azote Kjeldahl mg/l	30
Phosphates mg/l	02

## Partie II : Etude géographique

Timgad est une commune de la wilaya de Batna dans les Aurès, au nord-est de l'Algérie (**Seltz, 1946 ; Labourdette & Auzias, 2012**).

### 1. La Géographie

La station d'épuration de la ville de Timgad se situe au Sud-Est de celle-ci (35° 30' 57" Nord et 6° 30' 48" Est) (**Dridi et al, 2011**).

La station traite les eaux domestiques de la ville pour qu'elle rejoigne l'oued nommé Soltez qui appartient au bassin versant de Timgad ; une section droite d'un cours d'eau défini comme la totalité de la surface topographique drainée par ce cours d'eau et ses affluents à l'amont de cette section (**Dubief, 1953 ; Daget, 1977 ; Labourdette & Auzias, 2012**).

Le bassin versant de Timgad, fait partie du bassin versant d'Oued Chemorah. Ce dernier fait lui aussi partie d'un bassin versant plus grand celui des hauts plateaux constantinois (**Tiri et al., 2007**).

Il se situe à l'Est de la wilaya de Batna à 35 km. Il couvre une superficie de 189 km (**Coquand, 1962 ; Houadef, 2007**)

Le sous bassin versant est limité au Nord par le bassin d'Ank El-Djamel à l'Est par le bassin de Boulfreiss, au Sud par une partie de bassin de chott Melghuigh et à l'Ouest par le bassin d'Ezemoul (**Simon, 1992**).

Tandis que la commune de Timgad est limitée par : Nord : Sidi Mancer, Sud-Est : Bouhmar, Ouest : Tazoult (**Simon, 1975 ; Simon, 1992**).

La station de Timgad était installée pour bien préserver le milieu naturel du bassin versant et primordialement la qualité des eaux du barrage installé à quelques kilomètres, la raison pour laquelle le traitement de la station doit obéir aux normes des rejets (**ONA, 2007**).

## Partie III : Ouvrages et Principe de fonctionnement d'une STEP

### 1. Capacité de la station de Timgad

La capacité de recevoir des effluents en Equivalent Habitants qui peut être prise en charge est de : 13 000 EH, le débit journalier de la station pendant le stage n'a jamais dépasser 900 m<sup>3</sup>/j, soit 13 l/hab./j et donc : 10 g/hab./j de DBO<sub>5</sub>, 100 kg/j de NTK, 1000 kg/j de MES. On peut clairement constater que la station ne fait traiter que la moitié du débit de sa capacité (**Guyard, 2007**).

### 2. Les ouvrages de la STEP

Comme toute station d'épuration la STEP de Timgad renferme les ouvrages suivants ;

#### 2.1. Station de relevage

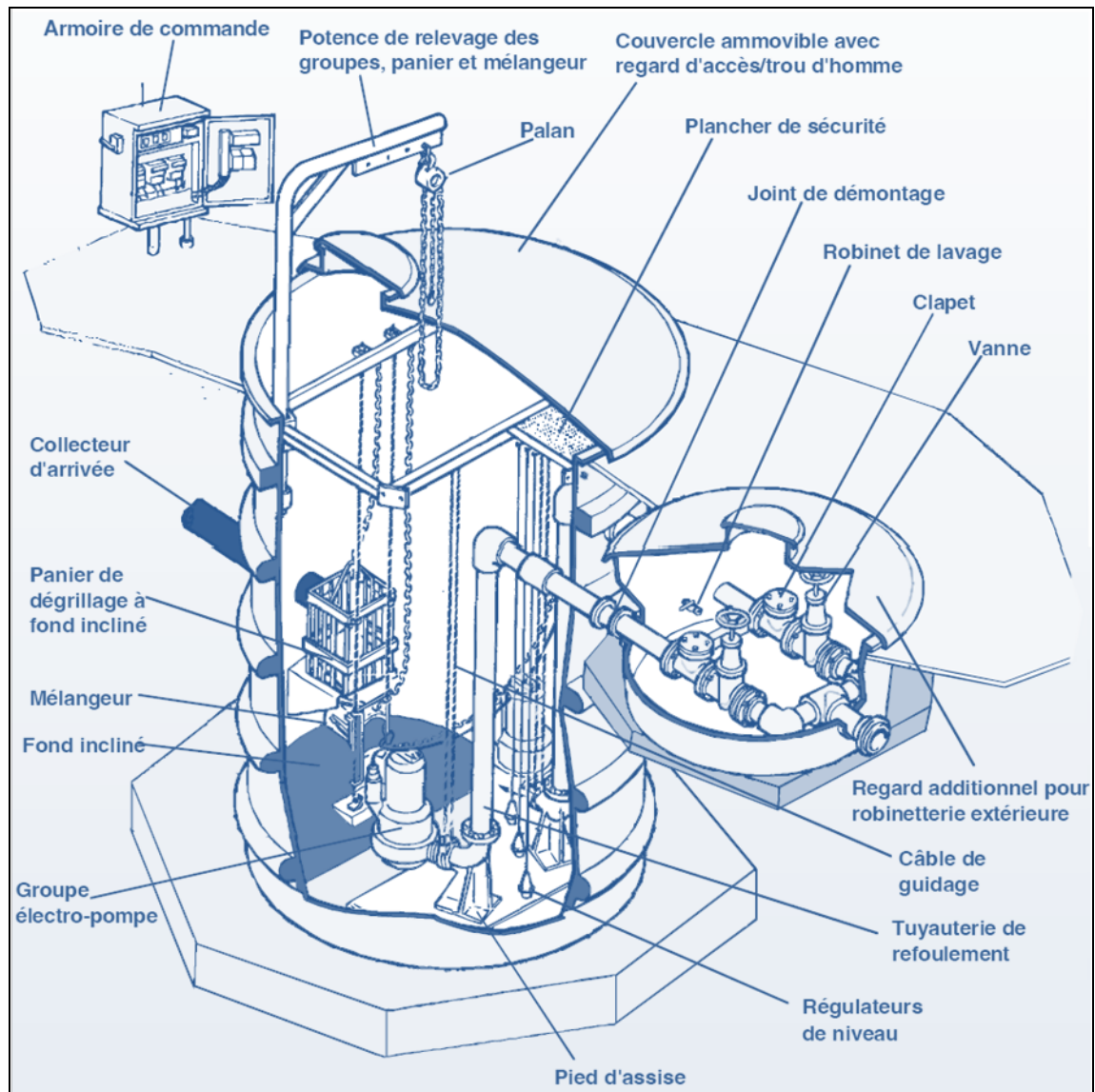
Les eaux usées arrivent généralement dans un collecteur enterré et nécessitent un système de relèvement jusqu'au prétraitement (**Beaudry, 1984 ; Bechac et al., 1987 ; Desjardins, 1997**). On peut avoir deux systèmes de relevage :

- poste de pompage (cas de STEP Timgad),
- vis d'Archimède.

Dans une station de relevage on doit rencontrer : Deux pompes au minimum (une en secours), une sonde de niveau, un panier dégrilleur relevable > 5 cm pour récupérer le maximum des déchets les plus grossiers (morceau de bois, bouteilles ...etc.), une pente de 20 % à l'arrivée des eaux usées afin d'éviter les dépôts.



**Fig. 1.2** : Photographie d'un ouvrage de relevage.



*Fig. 1.3* : Exemple de configuration d'une station de pompage (ONA, 2007).

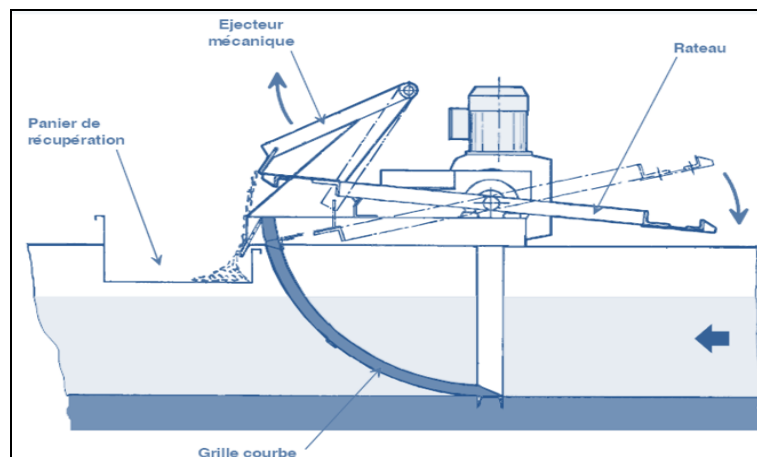
## 2.2. Les ouvrages de prétraitement

Ils visent à éliminer trois grandes catégories de polluants ;

- Les déchets grossiers qui entraînent des nuisances par accumulation, des odeurs et ainsi que le colmatage et la dégradation des ouvrages.
- Les sables (sable, gravier, débris de verre et métaux) risquent de s'accumuler au fond des ouvrages et provoquent l'abrasion des pompes.
- Les graisses entraînent l'encrassement des ouvrages, des sondes, le bouchage des conduites, elles flottent en surface, elles perturbent l'aération, elles rendent la décantation plus difficile (Beaudry, 1984 ; Bechac *et al.*, 1987 ; Desjardins, 1997).

### 2.2.1. Le dégrillage

A l'aide d'une grille il retient les gros déchets. Son but est d'éviter : l'accumulation, les odeurs, le colmatage des canalisations, l'inefficacité des ouvrages et des équipements. Son emplacement est à l'entrée de la STEP, après le relèvement (**Desjardins, 1997**).



**Fig.1.4.** Dégrilleur droit à nettoyage par l'amont (**ONA, 2007**).

#### 2.2.1.1. Evacuation des déchets

- Il faut prévoir une capacité de stockage de 48 heures minimum à l'abri des rats, mouettes et insectes.
- Le stockage des déchets à caractère organique (tendance à la fermentation), peut impliquer des dégagements d'odeurs et nécessite des précautions particulières : bennes hermétiques.
- L'accès à l'évacuation doit être aisé.
- L'incinération des déchets peut se faire avec les graisses, écumes et boues à une température supérieure à 800°C, ce qui évite les odeurs (**Schrivier-Mazzuoli, 2012**).

#### 2.2.2. Dessablage

Les eaux usées urbaines contiennent des particules minérales dont la densité est bien supérieure à celle de l'eau et des MO (**Bechac et al., 1987**). Ce sont des débris de verre ou de métaux mais surtout des graviers et des sables que l'on peut classer de la façon suivante :

argiles	limons	sables	graviers
0,02 mm	0,2 mm	2 mm	

**Fig. 1.5 :** L'échelle des différentes tailles des particules (**Beaudry, 1984 ; ONA, 2007**).

Il est nécessaire d'extraire ces matières quel que soit le type de réseau : unitaire ou séparatif. La concentration en sable peut atteindre 200 mg/l en séparatif, voire 500 mg/l en unitaire.

La séparation des sables met à profit la différence de densité entre les solides minéraux ( $d = 2.65$ ) et les MO ( $d = 1.2$ ) qui doivent rester en suspension. C'est là toute la différence entre les décanteurs et les dessableurs (**Croue, 1999**).

Le rôle du dessableur est de retenir les matières minérales lourdes ( $\varnothing > 200 \mu\text{m}$ ), sables et graviers à  $d = 2.65$ , dans le but d'éviter l'usure des pompes, l'engorgement des canalisations et les dépôts dans les bassins, ainsi que l'usure des centrifugeuses. Le dessableur se trouve en tête de station : après le dégrillage (**Desjardins, 1997**).

**2.2.2.1. Lavage et essorage des sables ;** ces deux opérations sont réalisés par :

- Hydro-cyclone placé en amont du système d'essorage,
- Lavage à contre courant dans une vis d'Archimède
- Lavage à contre-courant dans un classificateur à râeaux.

Ces trois technologies permettent d'obtenir de bon rendement (**Desjardins, 1997**).

### **2.2.3. Dégraissage-Déshuilage**

L'objectif du dégraissage est la séparer l'eau des huiles et des graisses, ce traitement supplémentaire est utilisé en vue d'éviter :

- L'encrassement des ouvrages
- Les flottants en surface
- Les perturbations de l'aération
- Le départ avec l'eau traitée (**Beaudry, 1984 ; Bechac et al., 1987**).

On le trouvera après le dessableur ou en bassin combiné avec le dessableur. Il existe différents types de dégraisseur-déshuileurs (**Schrivier-Mazzuoli, 2012**).

#### **2.2.3.1. Élimination des graisses**

Les graisses peuvent être extraites du dégraisseur par raclage ; ce système permet d'égoutter les graisses et les écumes pour les évacuer vers un puits (**Schrivier-Mazzuoli, 2012**).

### **2.3. Les ouvrages du traitement biologique**

Bassin Biologique (BB) et Clarificateur : Ces deux ouvrages, constituent les éléments de base du procédé d'épuration par BA. Cependant, contrairement à la culture en batch, les nutriments arrivent en continu, il est donc indispensable d'avoir en permanence le nombre de convives en rapport avec la quantité de pollution (**Chaib, 2004**).

Pour cela, il y a deux possibilités, soit il faut rajouter des bactéries ou en enlever. Quitte à ajouter des bactéries, autant reprendre celles qui ont décanté dans le clarificateur, c'est le rôle de la recirculation. (**Christian, 2003 ; Chaib, 2004**).

Cependant les bactéries sont des organismes à reproduction très rapide (quelques heures). Par conséquent leur nombre présent dans le bassin d'aération augmente en permanence (la concentration en boue). Pour un bon fonctionnement de la station, il faut impérativement que la concentration en boue soit constante. Donc il faut les extraire des boues ; les eaux usées préalablement prétraitées arrivent dans le bassin biologique où se trouvent les microorganismes épurateurs (**Bechac *et al.*, 1987**).

### **2.3.1. Le bassin d'aération**

Comme le nom l'indique il doit être aéré. Un brassage est nécessaire pour permettre la mise en contact entre les bactéries, la pollution et l'air (**Christian, 2003**). Le brassage est obligatoire lors d'une aération syncopée.

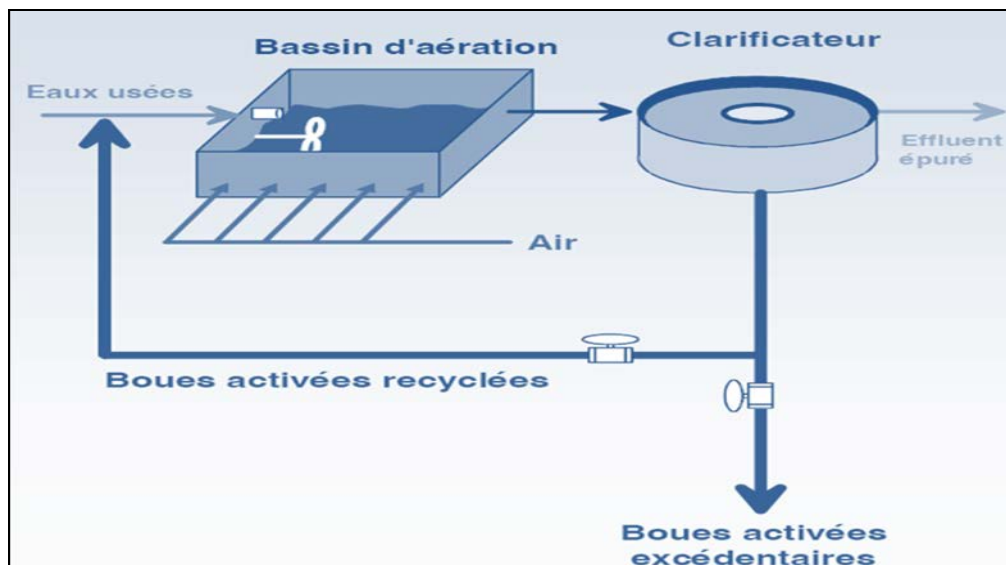
La fourniture de l'oxygène, indispensable à la vie de la biomasse épuratrice, constitue la part prépondérante de la consommation énergétique d'une STEP à BA (50 à 80 %). Généralement, cet oxygène dissous est fourni à partir du transfert de l'air atmosphérique dans le mélange eaux - BA, soit par injection d'air dans l'eau, soit par projection d'eau dans l'air. Dans beaucoup de cas, les dispositifs utilisés ont une double fonction : l'aération et le brassage des boues, afin de maintenir en suspension les micro-organismes et permettre les échanges d'oxygène (**Blanchon & Aurélie, 2009**).

Il ne faut pas oublier que cet oxygène est aussi à la base de l'oxydation de la MO (**Guyard, 2007**).

Il est impératif de satisfaire les besoins en oxygène, vis-à-vis de l'oxydation de l'ammoniaque ( $\text{NH}_4^+$ ) en nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), ce qui correspond à une dépense très importante d'oxygène. Par contre, pour éviter de mettre en péril la qualité de l'épuration, et accessoirement pour économiser de l'énergie, il faudra récupérer l'oxygène des nitrates en créant une anoxie (temporelle ou géographique) pour la dénitrification (**Beaudoin *et al.*, 2002**).

### **2.3.2. Le clarificateur**

A la sortie du bassin d'aération la liqueur mixte arrive dans le clarificateur où se déroule la séparation. Dans les conditions favorables aux développements des microorganismes la concentration de boues augmente au cours du temps d'où l'extraction des boues décantées au fond du clarificateur. La recirculation des boues décantées du clarificateur au bassin d'aération autorise entre autre d'ensemencer le bassin d'aération en bactéries épuratrices (**Christian, 2003**).



**Fig. 1.6** : Schéma de principe d'un traitement biologique (Beaudry, 1984 ; Bechac *et al.*, 1987).

Sur le schéma ci-dessus nous avons les éléments essentiels pour assurer le traitement des eaux usées par procédé à BA (Beaudry, 1984 ; Bechac *et al.*, 1987 ; Berne & Cordonier, 1991).

- L'arrivée d'eaux usées.
- Le bassin d'aération dont le quel les effluents entre en contact avec la BA et s'injectent d'air.
- Le brassage.
- Le clarificateur, où s'effectue la séparation entre les boues et l'eau épurée.
- Le dispositif de recirculation des boues.
- Le dispositif d'extraction des boues (Schriver-Mazzuoli, 2012).

#### 2.4. La désinfection

Un traitement tertiaire est utile dans les cas suivants:

- Amélioration de la qualité des rejets,
- Implantation sur la rivière de prises d'eau pour la consommation humaine et aux besoins agricoles en irrigation (D.A.P.E., 2006), cas du barrage de K. Mdaour.
- Réutilisation de l'eau usée à des fins industrielles (Valiron, 1983).
- Recyclage de l'eau dans les nappes aquifères (Mountadar *et al.*, 2010).
- Désinfection pour un rejet en zone de baignade (Delion *et al.*, 2004).

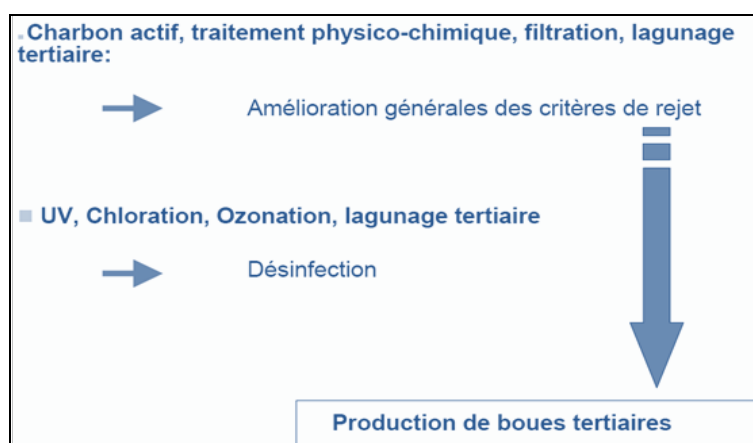


Fig. 1.7 : Les traitements tertiaires (Beaudry, 1984).

## 2.5. L'extraction des boues en excès

L'épuration biologique des eaux usées aboutit de façon incontournable à une production de boues en excès dans le système qui doit être évacuée. En effet, toute accumulation dans les réacteurs biologiques ou les clarificateurs serait à court terme préjudiciable à l'efficacité et à la fiabilité du traitement (Bechac *et al.*, 1987 ; Chaib, 2004).

Ainsi une accumulation des boues dans le bassin d'aération conduit aux inconvénients suivants :

- Surconsommation d'oxygène induisant soit des surconsommations d'énergie soit des risques de sous oxygénation des microorganismes.
- Surconcentration des boues et vitesse de décantation ralentie.
- Difficultés de brassage liées à la viscosité croissante de la BA.

Parallèlement, l'accumulation des boues dans le clarificateur est encore plus problématique :

- Réduction rapide de la hauteur de voile de boue et donc de la marge de sécurité vis à vis des fuites de boues.
- Allongement du temps de séjours conduisant à une altération de la qualité des boues, une biomasse moins active à cause de la mortalité des microorganismes épurateurs et développement des bactéries filamenteuses (Beaudry, 1984 ; Williams & Unz, 1985).

## 2.6. La recirculation des boues

La recirculation des boues du clarificateur vers le BB doit remplir plusieurs objectifs que l'on peut classer par ordre d'importance :

- Préserver la qualité des boues en évitant une stagnation prolongée des boues dans le clarificateur, afin de limiter toute dénitrification sauvage, fermentation/septicité des boues.
- Ramener les boues encore actives dans les BB afin de les réensemencer en quantité suffisante au regard de la pollution à traiter (Williams & Unz, 1985).

### 3. Le traitement biologique des eaux

L'épuration biologique utilise des microorganismes capables d'assimiler la pollution dissoute ces microorganismes sont : les bactéries, les protozoaires et les métazoaires (**Chaib, 2004**).

#### 3.1. Les bactéries

On utilise des bactéries pour épurer car elles sont des organismes microscopiques, elles s'adaptent facilement à la nutrition disponible ; ceci est essentiel puisque la qualité des eaux usées change constamment. Les bactéries se reproduisent très rapidement ; donc si la quantité de pollution varie rapidement, leur nombre évolue en fonction de cette quantité (**Christian, 2003**)

Certaines conditions doivent être respectées notamment l'aération et la clarification qui sépare les boues produites d'eau traitée (**Bechac et al., 1987**).

La potentialité des bactéries est l'adaptation rapide au milieu ambiant sous réserve de : pH  $\approx$  7, présence d'oxygène, température  $\approx$ 12°C, DBO<sub>5</sub>/DCO < 4, matière biodégradable disponible C/N/P  $\approx$ 100/5/1, la vitesse de reproduction doit être exceptionnelle (**Guyard, 2007 ; C.E.A.E., 2012**).

Mais ce qui est fondamental, c'est l'aptitude des bactéries à la floculation. En effet, lorsque les bactéries sont dans des conditions favorables, elles s'agglomèrent pour former des flocons de boue que l'on pourra séparer de l'eau par simple décantation au niveau du clarificateur (**Blanchon & Aurélie, 2009**). La floculation des bactéries est un phénomène complexe qu'on explique ainsi :

- Lors de leur croissance les bactéries libèrent des polymères (floculant) qui favorisent leur agglomération entre elles et sur les particules en suspension (**Christian, 2003**).
- Au cours de l'épuration, on maintient volontairement un équilibre entre la quantité de boue et la quantité de pollution à éliminer, si bien que les bactéries ont juste la quantité de nourriture nécessaire à leur vie et leur reproduction. Elles n'ont donc pas d'énergie à dépenser pour se déplacer, et de ce fait, elles ont tendance à se regrouper.
- Les bactéries sont les premiers microorganismes à se développer et à assimiler la pollution, mais rapidement, il apparaît au sein de la boue des protozoaires. Ces organismes sont les prédateurs des bactéries. Ils participent à l'épuration en éliminant une partie de la pollution, mais surtout en éliminant les bactéries qui ne veulent pas flocculer et qui restent en suspension (**Chaib, 2004**).

### 3.2. Les protozoaires

Les protozoaires sont des organismes plus évolués que les bactéries, ils sont plus gros. Leur taille est 10 à 100 fois plus importante que celle des bactéries. Par conséquent, on pourra facilement les observer au microscope. Cela est très intéressant puisqu'il existe un couple protozoaire/bactérie, qui est en rapport avec la qualité de l'eau entrante. De plus, les protozoaires présents dans la boue dépendent de la qualité de l'exploitation et de la conception de la station d'épuration (**Curds & Fey C., 1969 ; Madoni, 1994 ; 2003 ; Chaib, 2004 ; Blanchon & Aurélie, 2009**).

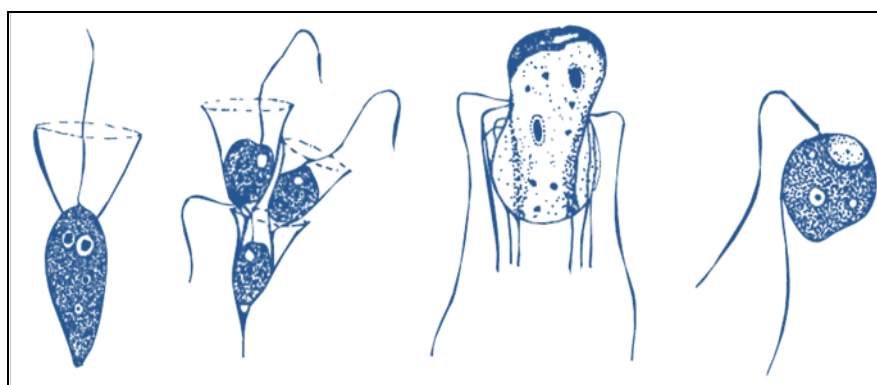
Ils représentent donc une aide pour juger la qualité de la boue. Pour cela, il est indispensable d'avoir un microscope qui peut grossir x100, x200 et x400, ainsi qu'un petit lexique qui permet d'identifier les organismes les plus courants (**Canler et al., 1999**).

#### 3.2.1. Les flagellés

Leur identification est difficile compte tenu de leur petite taille ( $< 20 \mu\text{m}$ ) à l'exception des flagellés coloniaux et de quelques grandes espèces. Les principales espèces sont identifiées à partir de leur taille, de leur forme et mobilité (**Christian, 2003**).

**3.2.1.1. Les *Monas* :** Pratiquement toujours présent dans les BA, ne se développe pas en période d'instabilité. Peut être associé à une charge faible et un rendement correct. En forte densité, indicateur d'apport notable d'effluents particuliers d'industries animales (abattoirs de volailles, de bétails ...etc.).

**3.2.1.2. Les *Trepomonas (Diplomonodida)* :** Leur présence, même en densité assez faible, est signe de carence en oxygène. Ils sont accompagnés d'une densité totale de la microfaune faible et d'autres indicateurs de sous oxygénation (spirilles, bactéries filamenteuses caractéristiques) (**Christian, 2003 ; Williams & Unz, 1985 ; Achoura & Belhamra, 2010**).



**Fig. 1.8 :** Les flagellés (de gauche à droite) : *Monosiga*, *Poteriodendron*, *Trepomonas*, *Pleuromonas*.

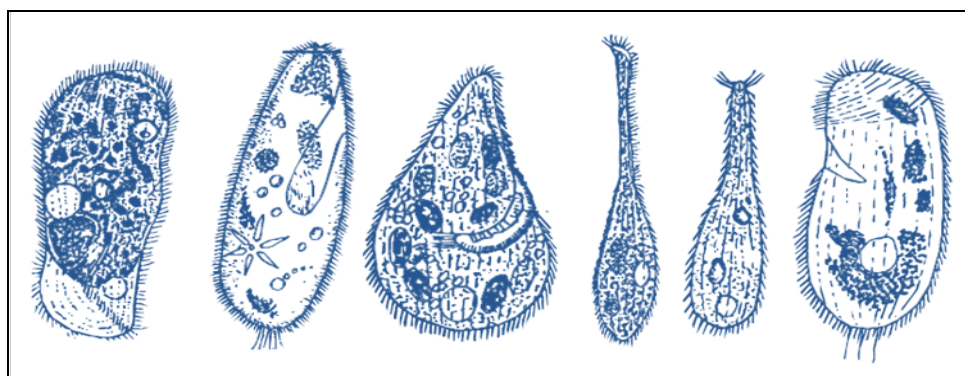
### 3.2.2. Les ciliés

Ils correspondent à la classe dominante lors des observations au microscope (70 % des populations) pour des installations à aération prolongée fonctionnant correctement. La ciliature a un double rôle, elle sert à acheminer la nourriture vers la région buccale et représente aussi pour certains le moyen de locomotion ; mais pas toujours (Curds & Fey C., 1969 ; Christian, 2003).

#### 3.2.2.1. Les ciliés holotriches nageurs

**3.2.2.1.1. *Trachelophylum pusillum* :** Leur alimentation est essentiellement les bactéries et les petits *Monas*. Ils se cultivent la surface des floes en concurrence avec les *Chilodonella*, *Aspidisca*. Ils sont présent quelque soit le domaine de charge de l'installation avec une préférence pour la moyenne charge. Ils sont d'autant plus abondants que la charge est élevée, corrélé à une épuration médiocre, indicateur d'une phase transitoire (surcharge ou anomalies d'aération). Leur absence est de relation avec le degré d'aération du système (Desjardins, 1997 ; Chaib, 2004).

**3.2.2.1.2. *Litonotus* ou *Lionotu* :** S'alimentent des bactéries, flagellés et ciliés. Ce sont des hôtes préférentiels des stations fonctionnant en moyenne charge. Connues comme espèces non permanentes, indicatrices d'une phase transitoire du traitement (Desjardins, 1997).



**Fig. 1.9 :** Les ciliés nageurs (de gauche à droite) : *Chilodonelle*, *Paramecie*, *Blefarisma*, *Litonotus*, *Trachelophylum*, *Colpidum*.

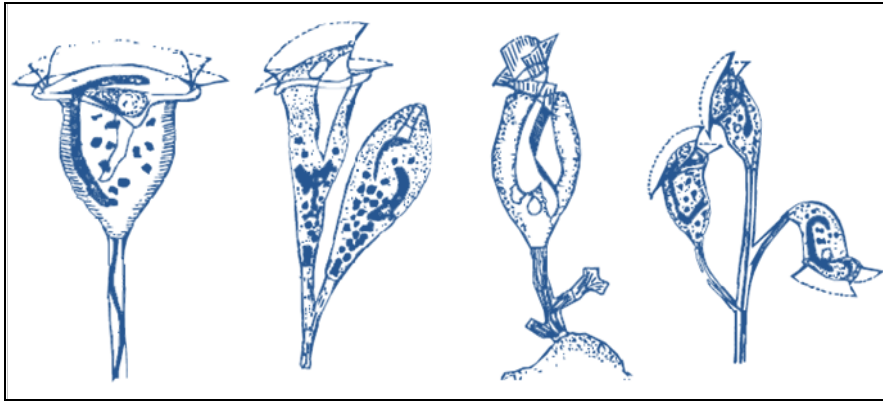
#### 3.2.2.2. Les ciliés fixes

**3.2.2.2.1. *Vorticelle* à pédoncule court :** Présents dans les eaux interstitielles encore chargées en bactéries libres ; celles-ci peuvent être dues à une charge plutôt élevée. Le niveau de traitement de l'installation est moyen. Deux exceptions pour ces vorticelles à pédoncule court, *Vorticella communis* et *Vorticella picta*, qui se retrouvent fréquemment dans des eaux interstitielles de bonne qualité (Beaudry, 1984).

**3.2.2.2.2. *Vorticelle* à pédoncule long :** Leur présence n'est pas liée à un domaine de charge particulier. Espèces relativement fragiles à l'apport de toxiques et à un manque d'oxygénation.

Observées sur des installations où l’oxygène est donc plutôt présent en permanence. 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, meilleur est le traitement (**Beaudry, 1984 ; Desjardins, 1997**).

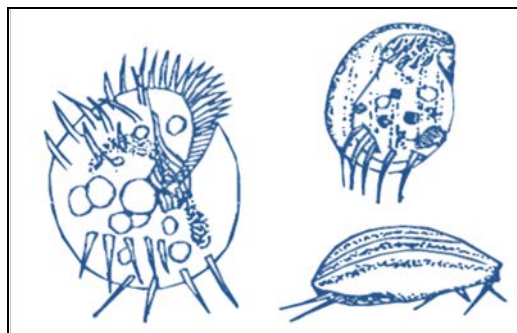
**3.2.2.3.3. *Epistylis rotans*** : leur alimentation se compose de bactéries libres. Leur présence est associée à un fonctionnement correct et stable de l’installation. Leur développement est corrélé à de longues périodes d’anoxie associées dans l’ensemble à une fourniture d’oxygène suffisante. En bassin unique, indicateur d’effluents traités de très bonne qualité (**Desjardins, 1997**).



**Fig. 1.10** : Les ciliés fixes (de gauche à droite) ; *Vorticelle*, *Epistylis*, *Carchesium*, *Opercularia*.

**3.2.2.3. Les ciliés brouteurs**

**3.2.2.3.1. *Epidisca costata*** : Un animal brouteur de flocc, il se nourrit de bactéries agglomérées. *Epidisca costata* souvent appelé par certains auteurs *Aspidisca cicada* ou *Aspidisca sulcata* est très fréquemment rencontré et peuvent être la faune dominante. Présent sur tous les types de BA au fonctionnement stable. Son abondance est généralement liée à une forte charge. L’*Epidisca costata* est relativement résistant à une sous aération et aux toxiques. Sa présence ne donne aucune indication sur la qualité du traitement (**Beaudry, 1984 ; Christian, 2003**).



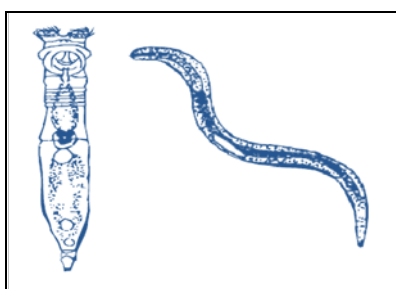
**Fig. 1.11** : Les ciliées brouteurs (de gauche à droite) ; *Euplote*, *Epidisca costata*

### 3.3. Les métazoaires

Ce sont des organismes encore plus évolués que les protozoaires. Ils se reproduisent plus lentement. Leur présence indique que la boue biologique est âgée. Autant la présence de rotifères est de bon signe, autant celle de nématodes témoigne d'une boue trop âgée (**Bechac et al., 1987 ; Christian, 2003**).

**3.3.1. Les Rotifere digononta :** S'alimentent des particules en suspension et des bactéries. Très fréquent dans les BA. Passagèrement dominant sur des installations sous chargées. Présent dans des boues de faible charge et d'âge élevé (15 jours au minimum) (**Desjardins, 1997**).

**3.3.2. Les Nématodes :** Certaines espèces sont prédatrices de protozoaires. Peut être présent en faible quantité dans tous les types d'installation, quel que soit le taux de charge. Assez résistants à la sous aération du milieu. En densité importante, signe de dépôts dans le bassin d'aération ou le décanteur (**Desjardins, 1997**).



**Fig. 1.12 :** Les métazoaires (de gauche à droite) ; *Rotifère digononta*, *Nématode*

## 4. Les principaux paramètres d'épuration

Les paramètres présentés dans le mémoire sont définies pour le traitement d'effluents urbains pour des situations normales caractérisées par l'absence d'incident spécifique d'exploitation (tel que le gonflement filamenteux, une surcharge organique chronique, ...etc.) (**Beaudry, 1984 ; Berne & Cordonier, 1991**).

### 4.1. La charge massique (Cm)

Elle caractérise l'équilibre biologique du traitement. C'est en quelques sorte le rapport de la quantité des nutriments/les individus a approvisionnés (**Berne & Cordonier, 1991**).

Schématiquement, elle représente le rapport : nourriture/biomasse dans le bassin d'aération elle est déterminée plus spécifiquement par le rapport :

$$C_m = DBO_5 \text{ (kg/j)} / MVS_{BB} \text{ (kg/ j)}$$

Cette expression repose sur le fait que la quasi-totalité des boues va rencontrer dans l'espace de la journée la pollution entrante.

Par ailleurs, l'activité biologique des boues dans le clarificateur ne peut pas être considérée comme nulle (Guyard, 2007).

Cette formulation intéresse surtout l'exploitant de par son mode de détermination plus rapide. Elle n'est cependant valable que pour des effluents de qualité constante ( $DCO/DBO_5 = \text{constante}$ ) (Guyard, 2007 ; C.E.A.E., 2012).

Le mode de calcul le plus utilisé est défini par la relation suivante : (Guyard, 2007).

$$C_m = Q \times DBO_5 / V_{BB} \times MVS_{BB}$$

Avec

Q : Débit journalier ( $m^3.j^{-1}$ ) entrant dans le bassin d'aération

$DBO_5$  : Concentration moyenne ( $kg.m^{-3}$ ) en  $DBO_5$  de l'influent à l'entrée du bassin d'aération

$V_{BB}$  : Volume ( $m^3$ ) du bassin d'aération

$MVS_{BB}$  : Concentration en ( $kg.m^{-3}$ ) en MVS des boues dans le bassin d'aération.

Dans la pratique, une évolution précise de la masse de boues dans le clarificateur reste très délicate.

### 4.2. La charge volumique ( $C_v$ )

Ce paramètre permet d'estimer la capacité du réacteur biologique à priori lors de la conception des ouvrages. Il représente le rapport :

$$C_v = DBO_5 \text{ (kg/j)} / V_{BB} \text{ m}^3 = Q \times [DBO_5] / V_{BB}$$

Avec

Q : Débit journalier ( $m^3.j^{-1}$ ) d'eau brute alimentant l'étage biologique

$DBO_5$  : Concentration ( $kg.m^{-3}$ ) en  $DBO_5$  dans l'influent du réacteur biologique

$V_{BB}$  : Volume ( $m^3$ ) du bassin d'aération

### 4.3. Le temps de séjour ( $T_s$ )

C'est le temps de séjour hydraulique de l'eau dans un bassin (décanteur primaire, BB et clarificateur) permettant le déroulement de traitement souhaité (Berne & Cordonier, 1991) :

- Sédimentation et séparation (pour les dessableurs et décanteurs),
- Mise en contact, adsorption, assimilation et respiration (pour le BB).

Le temps de séjours dépend de deux facteurs :

- Le volume du bassin V considéré ( $m^3$ ),
- Le débit de l'effluent transitant Q ( $m^3.h^{-1}$ )

$$T_s = V / Q$$

Cette notion de temps de séjour reste relativement théorique. Elle ne fait pas apparaître l'incidence de phénomènes difficilement appréciables tels que : des cheminements préférentiels ou/et un brassage non homogène, ... qui tendent à réduire le temps de séjour dans l'ouvrage considéré (**Beaudry, 1984**).

#### 4.4. L'âge de boues (A)

L'âge des boues représente le temps de séjour des boues dans les ouvrages de traitement biologique. Celui-ci est bien évidemment beaucoup plus long que le temps de séjour de l'eau à traiter, du fait de la recirculation répétitive des boues décantées vers le bassin d'aération (**Beaudry, 1984 ; Schriver-Mazzuoli, 2012**).

L'âge des boues détermine de nombreux aspects du traitement, tels que :

- La taille et la densité du floc biologique,
- La présence de bactéries nitrifiantes,
- La présence/diversité de la microfaune prédatrice de bactéries.

Associé à la température, l'âge des boues constitue le paramètre fondamental de dimensionnement des stations d'épuration qui doivent éliminer l'azote par nitrification/dénitrification bactérienne (**Berne & Cordonier, 1991 ; Christian, 2003**).

L'âge des boues dépend de deux facteurs :

- La quantité des boues, exprimée en kg, présente dans le BB,
- La quantité des boues en excès, évacuée hors du procédé biologique, exprimée en  $\text{kg.j}^{-1}$ .

$$A = \text{MES}_{\text{BB}} \times V_{\text{BB}} / \text{MES}_{\text{E}} \times Q_{\text{E}}$$

Avec :

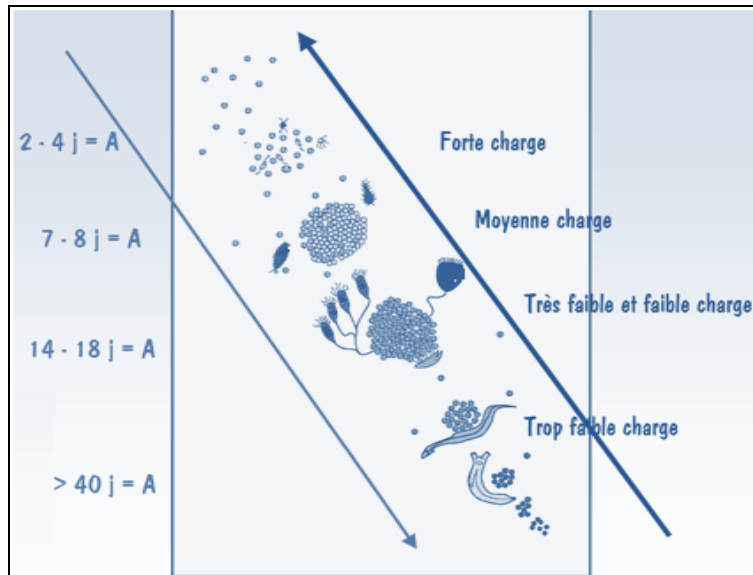
$Q_{\text{E}}$  : Débit journalier ( $\text{m}^3.\text{j}^{-1}$ ) d'extraction des boues en excès

$\text{MES}_{\text{BB}}$  : Concentration ( $\text{kg.m}^{-3}$ ) en MES des BA

$V_{\text{BB}}$  : Volume ( $\text{m}^3$ ) du bassin d'aération

$\text{MES}_{\text{E}}$  : Concentration ( $\text{kg.m}^{-3}$ ) en MES des boues extraites.

Le calcul néglige la masse de boues présentes dans le clarificateur ainsi que la fuite dans l'eau traitée.



**Fig. 1.13 :** Evaluation des microorganismes avec la croissance de l'âge de boues et la charge correspondante (Blanchon & Aurélie, 2009).

Au démarrage de l'installation les quantités de pollution sont supérieures aux quantités de boues (bactéries épuratrices). Nous avons ce que l'on appelle une croissance dispersée. Au fur et à mesure la quantité de boue augmente. A une phase intermédiaire du démarrage assez avancée, le floc se forme par la production naturelle d'exo-polymère avec une apparition de protozoaires ciliés nageurs. Ensuite d'autres espèces de protozoaires apparaissent lors du fonctionnement stabilisé de la BA (Christian, 2003).

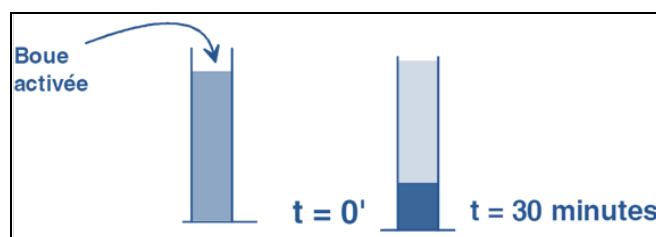
#### 4.5. L'indice de boues (IB)

Ce paramètre permet d'apprécier l'aptitude de la boue à la décantation. Cet indice représente le volume occupé par un gramme de boue, après 30 minutes de décantation dans une éprouvette transparente d'un litre (Desjardins, 1997).

$$IB \text{ (ml.g}^{-1}\text{)} = V_{30} / \text{MES}$$

Il dépend de deux éléments :

- Le volume de boues décantées  $V_{30}$  exprimé en  $\text{ml.l}^{-1}$ ,
- La concentration en MES des boues exprimée en  $\text{g.l}^{-1}$ .



**Fig. 1.14 :** Détermination du  $V_{30}$

## Partie IV : Nitrification / Dénitrification

Il existe différents procédés pour éliminer la MA. Malheureusement les méthodes physiques ou chimiques ne sont pas envisageables en traitement d'eau usée. Il reste donc comme seule voie, la voie biologique (Mary *et al.*, 1997 ; Brisson *et al.*, 1998 ; Xiaohui *et al.*, 2010).

Celle ci fait appel à quatre processus d'oxydoréduction.

- L'ammonification ; Transformation de l'azote organique en azote ammoniacal.
- L'assimilation ; Utilisation de l'azote ammoniacal pour la synthèse bactérienne.
- La nitrification ; Oxydation de l'azote ammoniacal en nitrites puis en nitrates (Gomez *et al.*, 2003).
- La dénitrification ; Réduction des nitrates en azote gazeux.

### 1. L'ammonification

Quoi qu'il en soit, le taux d'ammonification ne dépend pas de la nature de la population microbienne mais de la composition de la MO qui sont minéralisées. Le taux est faible lorsque le carbone C excède beaucoup l'azote N (C/N= 25), et fort dans le cas contraire (C/N= 10).

On peut résumer les étapes de transformation de l'azote organique en azote ammoniacal comme suit (Xiaohui *et al.*, 2010 ; Surdin, 2012):



Comme toute réaction, plusieurs facteurs favorisent plus ou moins la réaction. Néanmoins on peut dire que cette ammonification se fait sans problème dans les ouvrages, réseau surtout, et station d'épuration (Geng *et al.*, 1989 ; Xiaohui *et al.*, 2010).

### 2. L'assimilation

Les bactéries présentes dans la BA se reproduisent au dépend de la DBO<sub>5</sub> ce qui conduit à la formation de nouvelles cellules. Ces cellules sont constituées principalement de C, H et O. Cependant des traces d'azote et de phosphore constituent une part de cette masse biologique. Une "formule chimique" pour la matière vivante est proposée : C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub> ; ainsi qu'une autre pour la pollution organique C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>N ce qui permet de mettre en équation l'élimination de la pollution (Gomez *et al.*, 2002 ; 2003).



C'est bien évidemment une approximation car varie selon la stœchiométrie et l'âge des boues.



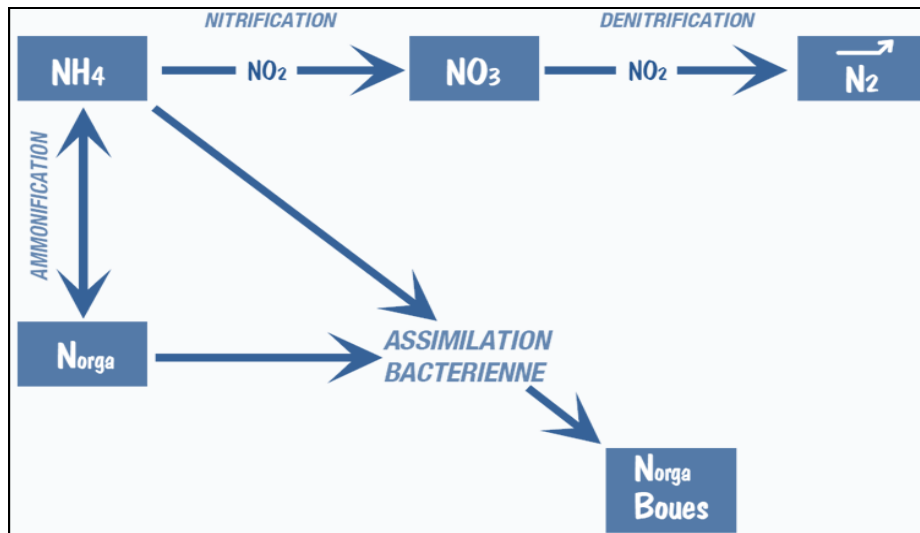


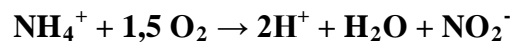
Fig. 1.15 : Les différentes étapes de transformation de MA (Desjardins *et al.*, 1997 ; Xiaohui *et al.*, 2010).

### 3. La nitrification

Deux stades d'oxydation biologique avec à chaque stade une population différente de bactéries.

#### 3.1. La nitrification ; Oxydation des $\text{NH}_4^+$ en $\text{NO}_2^-$

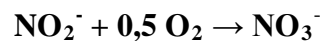
Selon Tawan *et al.*, 2005 la réaction caractéristique est :



Il est absolument nécessaire d'avoir ammonifié l'azote pour prétendre oxyder celui-ci en nitrites. N'oublions pas l'influence du pH car, si l'eau s'acidifie, lorsque  $\text{NH}_4^+$  est oxydé en  $\text{NO}_3^-$  (production de  $\text{H}^+$ ).

#### 3.2. La nitrification ; oxydation de $\text{NO}_2^-$ en $\text{NO}_3^-$

Les bactéries impliquées dans cette transformation sont nombreuses, la réaction caractéristique est : (Tawan *et al.*, 2005).



Les bactéries éliminant la MO se nourrissent de carbone organique, elles sont hétérotrophes et aérobies ; par contre celles réalisant la nitrification sont autotrophes et aérobies (Pichinoty *et al.*, 1975), ce qui nécessite un âge de boue élevé c'est-à-dire une charge massique faible. La température influence grandement ces cinétiques bactériennes ce qui conduit à ajuster l'âge des boues en fonction de la température de l'eau (Larsen *et al.*, 2008 ; Xiaohui *et al.*, 2010)

Dans les réactions précédentes, on remarque que cette nitrification, outre la respiration des bactéries, demande de l'oxygène en quantité très importante 4,3 kg  $\text{O}_2$  pour chaque kg de N- $\text{NO}_3^-$  produit. Dans le cas d'une station travaillant en aération prolongée tel la station de Timgad les besoins énergétiques sont généralement couverts par la contrainte de brassage.

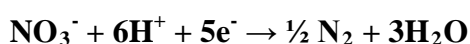
#### 4. La dénitrification

En absence d'oxygène dissous, de nombreuses bactéries hétérotrophes sont contraintes d'utiliser une autre source d'oxygène. Elles utilisent alors l'oxygène combiné, c.à.d. celui contenu dans le nitrate  $\text{NO}_3^-$ . Avant d'arriver au stade ultime d'utilisation complète de l'oxygène lié au nitrate pour obtenir l'azote gazeux  $\text{N}_2$ , une série de réactions complexes se produisent. On peut néanmoins les résumer (**Taha , 2002**):



Le carbone organique nécessaire peut être celui contenu dans l'eau usée. S'il provient des bactéries elles-mêmes, on parlera alors de dénitrification endogène.

Globalement on peut écrire la réaction suivante :



Les  $5\text{e}^-$  proviennent du donneur d'électrons les bicarbonates.

##### 4.1. Facteurs influencent la dénitrification

Pour que la dénitrification soit efficace, il faut :

- Avoir au préalable une bonne nitrification
- Disposer d'une source de carbone organique : Contrairement à la nitrification, la dénitrification ne nécessite pas d'âge de boue élevé.
- La température : Bien que les résultats des études théoriques soient très différents, on peut considérer que l'élévation de température favorise la dénitrification.
- L'oxygène dissous : Pour que la dénitrification puisse avoir lieu, il est important de passer par zéro en  $\text{O}_2$  (être en anoxie pas de  $\text{O}_2$ , seulement  $\text{NO}_3^-$ ) pour démarrer ces réactions.
- Le brassage : Il est nécessaire en fin bien mélangé les trois ingrédients (bactéries, carbone,  $\text{NO}_3^-$ ).

Les vitesses de dénitrification sont très dépendantes de l'efficacité du brassage des boues dans le réacteur biologique. On retiendra qu'un brassage correct fiabilise la mise en contact des bactéries dénitrifiantes avec les nitrates et le carbone organique et garantissent une vitesse de dénitrification optimum (**Xiaohui et al., 2010**).

##### 4.2. Zone anoxie en tête

Procédé assez répandu la STEP est constituée d'une zone d'anoxie placée en tête, elle reçoit l'eau usée (source de carbone) et l'apport de micro-organismes déjà en anoxie (la circulation des boues). C'est dans cette zone que s'effectue une grande partie de la dénitrification. Le rendement dépend des différents taux de recirculation appliqués ainsi que du  $T_s$  dans cette zone (**Tawan et al., 2005 ; Tarmou, 2007 ; Xiaohui et al., 2010**).

Tab. 1.2: Points d'opposition et points communs entre nitrification/dénitrification (Xiaohui *et al.*, 2010).

	Nitrification	Dénitrification
<b>Points d'opposition</b>	aérobie	anaérobie
	C minérale	C organique
	A élevé	A faible
	Cm faible	Cm fort
	Consommation d'alcalinité	Restitution d'alcalinité
	Consommation d'oxygène	Restitution d'oxygène
<b>Point communs</b>	Sensibilité a la température	
	pH neutre 7 à 7.5	

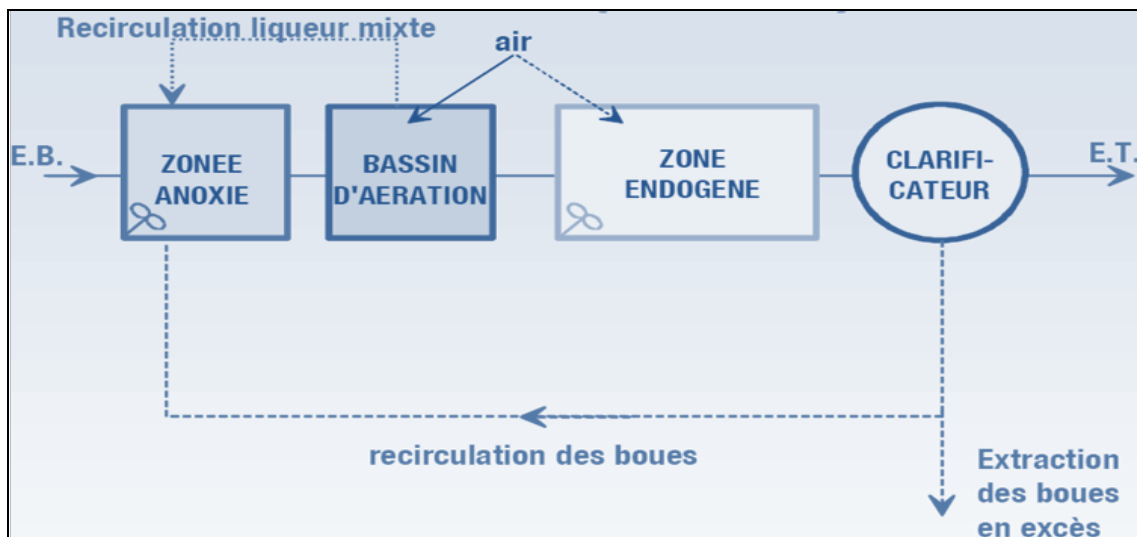


Fig. 1.16 : système de nitrification dénitrification en bassin unique PHOREDOX

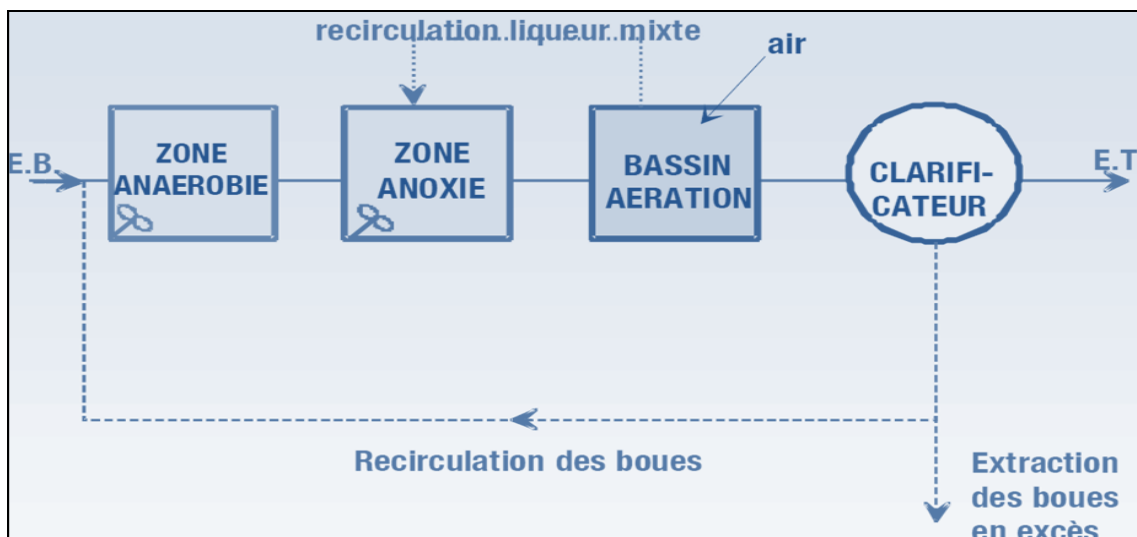


Fig. 1.17 : Système de nitrification/dénitrification en bassin unique PHOREDOX modifié pour cibler une déphosphatation biologique (Ghizellaoui & Ghizellaoui, 2010).

## Partie V : Déphosphatation

### 1. Déphosphatation physico-chimique

Dans la grande majorité des cas, le procédé retenu sera la précipitation chimique de sels métalliques. Bien que la forme prédominante dans les eaux usées soit  $\text{PO}_4^{3-}$ , il serait plus juste de parler de  $\text{HPO}_2^-$  au pH normal d'une eau usée.

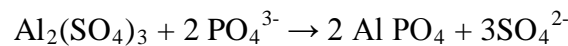
Selon la forme chimique du phosphore et le pH de l'eau, on peut associer 3 mécanismes différents.

- Précipitation des phosphates hydroxy-métalliques,
- Adsorption des phosphates organiques,
- Coagulation et piégeage du phosphore particulaire (**Dillon *et al.*, 1998 ; Slansky *et al.*, 2012**).

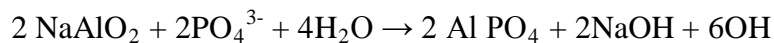
#### 1.1. Sels et réaction

##### 1.1.1. Sels d'aluminium

- Sulfates d'aluminium :  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$



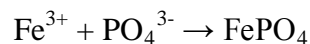
- Aluminate de soude :  $\text{Na}_2\text{OAl}_2\text{O}_3$  ou  $\text{NaAlO}_2$



On observe une augmentation du pH.

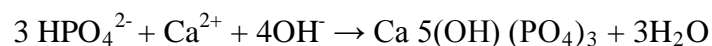
##### 1.1.2. Sels de fer

Sulfate ferreux :  $\text{FeSO}_4$  ou Chlorure ferrique :  $\text{Fe Cl}_3$  ou Chloro-sulfate ferrique :  $\text{FeSO}_4\text{Cl}$



##### 1.1.3. Sels de calcium

Chaux éteinte :  $\text{Ca}(\text{OH})_2$



### 1.2. Inconvénients

Dans tout les cas la déphosphatation physico-chimique conduit à une surproduction importante de boue (15 à 30 % de plus en MES) et représente un très gros handicap en cas de difficulté à éliminer les boues, la fiabilité du système d'assainissement sera moindre.

D'autre part, les réactifs chimiques utilisés induisent des coûts d'exploitation supplémentaires et loin d'être négligeables (**Mamoru *et al.*, 1999 ; Adrian *et al.*, 2005**).

## 2. Déphosphatation biologique

La déphosphatation biologique est une alternative qui tente de remédier à ces deux inconvénients.

### 2.1. Principe

Cette déphosphatation biologique ne conduit pas à une élimination par dégazage comme pour l'azote. Le phosphore ne peut être extrait qu'avec les boues en excès. Diverses voies d'élimination sont possibles : avec le décanteur primaire, seulement 5 à 10 % maximum du phosphore peut être éliminé car la majeure partie de celui-ci se trouve sous forme soluble (ortho-phosphates). Le traitement biologique permet d'éliminer du phosphore, au même titre que l'azote, par assimilation. Cela conduit à des rendements modestes d'environ 20 %.

Cependant, on a constaté, que dans certaines conditions, les bactéries étaient capables d'aller bien au-delà de leurs simples besoins pour leur croissance : on désigne ce phénomène sous le nom de : assimilation pléthorique.

Une des conditions essentielles pour enclencher ce phénomène est le choc anaérobie au cours duquel des modifications se produisent au niveau de la microfaune car la pollution carbonée est hydrolysée par fermentation, en substrat facilement assimilable, comme les acides gras. Ce substrat permet le développement d'espèces spécifiques comme *Acinetobacter* (**Mamoru et al., 1999 ; C.S., 2007**).

Cette phase anaérobie a aussi pour conséquence de modifier le métabolisme des bactéries et notamment de favoriser le relargage du phosphore en dehors de la cellule bactérienne sous forme d'ortho-phosphates.

Lorsque la microfaune se retrouve de nouveau en phase aérobie avec le fait que son métabolisme qui a été fermentaire, permet d'assimiler des quantités de phosphore près de 3 fois supérieures à leurs simples besoins (**Nakamura et al., 1989 ; 1995**).

### 2.2. Conditions

Pour réussir la déphosphatation biologique, il est essentiel de :

- Posséder une bonne oxygénation en zone aérobie.
- Avoir une zone anaérobie stricte.
- Maîtriser le Ts en zone anaérobie (1 à 3 heures maximum).
- Avoir un âge de boue faible mais compatible avec nitrification.
- Les nitrates ont un effet inhibiteur très fort sur le relargage (**Mamoru et al., 1999 ; Adrian et al., 2005**).

**Première partie : L'échantillonnage**

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté. L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques et biologiques de l'eau (**Blanchon & Aurélie, 2009 ; Rodier et al., 2009**).

Les échantillons seront recueillis dans des flacons en verre soumis au préalable à un nettoyage rigoureux et une stérilisation, il convient d'étiqueter ou de numéroter les prélèvements. Chaque flacon doit être accompagné d'une fiche signalétique permettant de mettre les renseignements utiles au laboratoire ainsi que les observations constatées au cours des échantillonnages (**Delattre & Oger, 1992 ; Rodier, 2009**).

Tous les échantillons doivent être conservés dans un environnement avoisinant 4°C à l'intérieur du délai de conservation prescrit (utiliser des glacières et des sacs réfrigérants).

Lorsqu'un agent de conservation est utilisé pour rendre basique ou acidifier un échantillon, il est inapproprié d'ajouter plus de 5ml d'agent de conservation par échantillon de 100 ml même si le pH voulu n'est pas atteint. Signaler ce fait en laissant une note sur les formulaires d'analyse pour un traitement ultérieur au laboratoire (**C.E.A.E. ; 2012**).

**1. Étiquetage des échantillons bactériologiques**

L'étude bactériologique a été réalisé sur sept prélèvements prélevés à chaque étape d'épuration où les différents ouvrages ont été mentionnés par une suite alphabétique de A (l'entrée) jusqu'au F et G (les deux produits finaux de processus dont les eaux épurées et les boues).

**Tab. 2.1. :** Désignations des prélèvements.

Les ouvrages échantillonnés	
A	Eaux brutes
B	Bassin de contact
C	Bassin d'aération
D	Bassin d'anoxie
E	Décanteur / Clarificateur
F	Eaux traitées
G	Boues extraites.

\* Voir annexe 01 pour les normes selon les quelles les échantillons ont été conservés.

### Partie II : Matériels & Méthodes pour les analyses Microbiologiques

#### 1. Matériels courant du laboratoire

- Microscope binoculaire à fond clair avec lames et lamelles,
- Eau physiologique pour les dilutions,
- Pipettes Pasteurs et anse de platine,
- Boîtes de Pétri,
- Bain marie pour fondre les géloses,
- Etuve réglée 35-37 °C normale (pour aérobiose) et à CO<sub>2</sub>,
- Hotte de microbiologie,

#### 2. Milieux de cultures \*

Un milieu de culture est un support qui permet la culture de cellules, de bactéries, de levures, de moisissures afin de permettre leur étude. En principe, les cellules trouvent dans ce milieu les composants indispensables pour leur multiplication en grand nombre, rapidement, mais aussi parfois des éléments qui permettront de privilégier un genre bactérien ou une famille. Ainsi, selon le but de la culture, il est possible de placer les micro-organismes dans des conditions optimales, ou tout à fait défavorables (**Leclerc *et al.*, 1995**).

Dans ce type de méthodes, les bactéries maintenues dispersées dans un milieu solide ou à sa surface, donnent naissance, dans des conditions favorables, à des colonies isolées les unes des autres qui, de ce fait, peuvent être directement comptées. Connaissant le volume d'échantillon ensemencé, il est possible d'exprimer le résultat final du dénombrement en fonction d'un volume d'eau pris comme unité :  $x$  colonies pour 1 ml, ou  $y$  colonies pour 100 ml. On admet comme hypothèse du travail que chaque colonie correspond à une bactérie, ce qui d'ailleurs en pratique est loin d'être toujours exact ; plusieurs bactéries s'adsorbent sur une même particule et ne donnent naissance qu'à une seule colonie (**Leclerc *et al.*, 1995 ; Madigan *et al.*, 2005**).

---

\* Voir annexe 02 pour la composition, la préparation est la lecture pour la partie bactériologique.

Parfois, la sélectivité du milieu est telle que le premier dénombrement répond immédiatement au but de l'analyse ; le plus souvent les colonies dénombrées (ou une partie d'entre elles) ne sont que présumées appartenir au groupe recherché. Il est alors nécessaire, en principe, de repiquer sur des milieux confirmatifs toutes les colonies suspectes. Ils existent deux types de dénombrement sur milieu solide :

- Les méthodes par incorporation de la prise d'essai dans la gélose ;
- Les méthodes par étalement en surface de la prise d'essai.

Pour toutes les modalités de ces méthodes, la précision et la sensibilité dépendent de certains facteurs qui leur sont communs.

### **2.1. Gélose nutritive :**

Cette gélose est un milieu commun qui nous permet d'estimer la charge bactérienne présente dans un échantillon sans tenir compte quelles soit des Gram positifs ou négatifs. Ce milieu permet la culture des bactéries peu exigeantes, certaines colonies peuvent avoir des couleurs caractéristiques (**Delost, 1997**) (il y a des cas entamés dans la partie pratique).

### **2.2. Gélose V.R.B.G. :**

La gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre est utilisée pour le dénombrement des entérobactéries, dans les eaux et les produits laitiers. Elle inhibe la croissance des bactéries à Gram positif et pratiquement celle des autres bactéries à Gram négatif (**Joly B. & Reynaud, 2003**).

### **2.3. Gélose Hektoen :**

La gélose Hektoen est un milieu pour l'isolement des entérobactéries et permet la différenciation de celles pathogènes (**Joly & Reynaud, 2003**).

### **2.4. Gélose Chapman :**

Le milieu Chapman est un milieu sélectif pour la culture des staphylocoques mais ; exceptionnellement, d'autres germes peuvent végéter ; la mise en évidence du staphylocoque devra toujours être confirmée par un examen microscopique.

### **2.5. Gélose B.C.P. :**

La gélose lactosée au Bromo-Crésol Pourpre est un milieu utilisé pour l'isolement des entérobactéries ; cependant de nombreuses bactéries n'appartiennent pas à cette famille peuvent pousser sur ce milieu non inhibiteur. Il permet de différencier les espèces fermentant le lactose de celles qui ne le fermentent pas (**Leclerc *et al.*, 1995**).

### **2.6. Gélose au sang frais et Gélose au sang cuit (chocolat) :**

La gélose au sang frais de cheval est utilisée pour la culture des germes exigeants et pour l'étude de l'hémolyse des bactéries hémolytiques, principalement des streptocoques. (**Lansing et al., 2007 ; Grou-Radenez, 1981**).

### **2.7. Gélose Muller Hinton :**

Utilisée pour les antibiogrammes, méthode des disques.

### **2.8. King A et King B:**

Deux milieux utilisés pour la confirmation des *Pseudomonas* ils exaltent les pigmentations du groupe *P. fluorescens* : *P.aeruginosa*, *P.fluorescens* et *P.putida*...

### **3. Réactifs :**

Disques d'O.N.P.G., Réactif Covacs, Réactif Nitrate réductase (I, II), Réactif Vogue Prosker (I, II), Réactif de Jeams, Huile de Paraffine, R.M.

### **4. Galeries API 20E et API 20NE :**

Elles utilisent plusieurs types de tests : étude de la fermentation de divers glucides, auxanogramme, recherche directe d'une enzyme. Chaque tubule contient un substrat différent. Ils sont remplis d'une suspension bactérienne calibrée. Pour les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit aussi être remplie de manière à créer un ménisque. Pour les substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de paraffine soit pour créer l'anaérobiose, soit pour maintenir en solution les ions volatils produits par la réaction et ainsi assurer le virage de l'indicateur coloré de pH.

Les creux du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, la galerie est posée dans le support le couvercle par-dessus et incubée pendant 24 à 48h.

### **Lecture :**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture. Réaliser les tests nécessitant l'addition des réactifs. Après addition des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant et codée.

### **5. Disques d'antibiotiques \***

Papier blanc épais (0,40 mm) et imbibé d'antibiotique peut être concentré jusqu'à 175 g/m<sup>2</sup>.

---

\* Voir annexe 03 pour l'antibiogramme et les antibiotiques utilisés.

### 6. Examen microscopique des boues :

Aucune norme AFNOR, NE – NF ni ISO n'existe, les analyses ont été réalisées selon la méthode de **Jean-Pierre Canler** et ses collaborateurs (1999) décrite dans son guide "*Aide au diagnostic des stations d'épuration par l'observation microscopique des boues activées*". C'est le protocole suivi dans tous les STEP jusqu'à aujourd'hui.

On utilise un microscope de routine binoculaire à grand champ (18 à 20mm).

### Partie III : Normes et matériels pour les analyses physico-chimiques

#### 1. Matériels courant du laboratoire

- Distillateur d'eau de grande pureté : déminéralisé et stérile avec une sécurité de surchauffe, débit 4 l/h, conductivité : [1-2]  $\mu\text{S}/\text{Cm}$ , extrait sec :  $<1 \text{ mg/l}$ .
- Hotte Chimique (pour attaque acide) : Une hotte d'extraction vers l'extérieur avec ventilation, 2700 Tours minutes et débit :  $250 \text{ m}^3/\text{h}$ . 220/380-50Hz.
- Balances de précision de portée 160 g et de précision  $0,1\text{mg}$  ( $0,0001\text{g}$ )  $\pm 0,1 \text{ mg}$ .
- Balances de précision de portée 2000 g et de précision  $0,1\text{g} \pm 0,2 \text{ mg}$
- Etuves de séchage jusqu'à  $220^\circ\text{C}$  avec sécurité surchauffe : Volume 115 litres dimensions internes (49cm.58cm.40cm)
- Dessiccateur en verre de diamètre intérieur 200mm, rodage plan avec couvercle à bouton en verre dure résistant aux chocs thermiques et mécaniques.
- Four à moufle de température :  $100 - 1200^\circ\text{C}$ , Volume : 5,8 litres, puissance 1000- 1800 W, sécurité surchauffe et sécurité ouverture de porte.
- Réfrigérateur de conservation des réactifs  $4^\circ\text{C}$  : volume 178 litres
- Réfrigérateur de conservation des échantillons  $4^\circ\text{C}$  : volume 325 litres.
- Agitateur magnétique chauffant à un poste avec revêtement anti acide, diamètre de la plaque : 155mm, vitesse réglable de 10 à 1200 tours/minute, température réglable jusqu'à  $200^\circ\text{C}$ , puissance jusqu'à 500W,
- Agitateurs magnétiques non chauffants à un poste chacun : volume agité 1ml à 1,5 l.
- Barreaux aimantés et extracteur de barreau.
- Plaque chauffante avec grande résistance chimique : température réglable jusqu'à  $300^\circ\text{C}$ , thermostat de sécurité surchauffe, puissance jusqu'à 2200 W, dimensions cm: 47x32x19.
- Plaque chauffante avec bain de sable : dimensions cm: 50x35, bain  $30^\circ\text{C}$ - $110^\circ\text{C}$ , corps de chauffe 1800W.
- Bain-marie à  $+ 100^\circ\text{C}$  : 10 litres, dimensions internes est 30x33x15 cm, avec sécurité surchauffe.
- pH / mV mètre permettant des mesures du pH / potentiel redox avec électrode combinée de pH et électrode combinée Redox recommandées pour les eaux usées pH 0,0 à 14,00, avec une sonde accessoire pour mesurer la température jusqu'à  $0,0$  à  $100^\circ\text{C}$  (NFT 90 – 100),  $\text{Mv} \pm 400$  à 1600, solutions tampons pH [4] ; [7] ; [9].

- Oxymètre portable ou de terrain de routine avec sonde de mesure de l'oxygène dissous avec câble de 3m, oxygène dissous 0-20 mg/l, compensation automatique de la température, saturation d'oxygène 0,0 – 100%.
- Conductimètre de routine pour mesure de la conductivité avec sonde de mesure de la température intégrée, conductivité : 2 $\mu$  à 100 mS/Cm, compensation de la température jusqu'à 100°C, double affichage : Conductivité, Salinité et TDS.
- Centrifugeuse : conduisant à une accélération de 28000 à 32 000 m.s<sup>-2</sup>,
- Granules régulateurs d'ébullition,
- Minuteriers.

### **2. Mesure de pH**

C'est la norme NFT 90 – 008 (1953).

### **3. Mesure de Conductivité**

La norme NF T 90 – 031(1997) a été remplacée par la norme NF - EN 27888 (1994).

### **4. Mesure d'Oxygène dissous**

La méthode électrochimique dont la norme NF-EN 25814 qui vient remplacer la norme NFT 90- 106, méthode valable surtout pour les mesures du terrain. Ce qui est le cas dans cette étude où l'oxygène dissous est mesuré à l'aide d'une sonde seulement au niveau du bassin d'aération là où de l'oxygène est injecté par des disques.

### **5. Mesure de température**

La norme NFT 90–100 est abandonnée et devient la norme relative aux méthodologies d'échantillonnage. La température de l'échantillon peut être mesurée moyennant la sonde de température qui fait partie des instruments de mesure de la conductivité (Instrument composé de deux électrodes de mesure de la conductivité et de la température).

### **6. Test de décantation**

Aucune norme AFNOR, NE et ISO n'existe, nous avons choisi la méthode d'analyse la plus courante, voir la méthode de J.RODIER Méthode IMHOFF.

### **7. Matières En Suspensions (MES)**

NF EN 872 / Méthode par filtration sur filtre en fibre de verre.

### **8. Mesure de la DCO**

NF T-90-101 2001.

### **9. Mesure de la DBO<sub>5</sub>**

La méthode donnée NF EN 1899-1 1998 remplace la norme NFT 90-103 (1975)

Il s'agit de la méthode de mesure avec dilution, c'est la méthode qui convient puisqu'il s'agit d'analyser des eaux usées brutes et traitées.

### **10. Dosage d'ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)**

NF T 90-015-1 Méthode par acidimétrie après distillation et titrimétrie directe.

### **11. Dosage de nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)**

La norme NFT 90-012 (1975), méthode au salicylate de sodium a été remplacée par la norme NE - NF 13395(1996) équivalente à la norme française NFT 90-012 (1987), méthode pour déterminer l'azote nitreux et nitrique par analyse en flux (plutôt destinée à l'analyses des nitrates dans les eaux potables). La norme NFT 90 - 012 (1975) après mise à jour a fait l'objet de la norme NFT 90 - 045 équivalente à l'ISO 7890-3.

### **12. Dosage de nitrites (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)**

NF EN 26777 /MAI 1993 NF T 90-013

### **13. Dosage des ortho-phosphates (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)**

NF EN 1189 /JANVIER 1997 T90-023. Méthode d'acide ascorbique.

---

Voir annexe 04 pour les protocoles d'analyses en détails selon les normes citées ci-dessus.

### Partie I : Résultats et discussion Microbiologiques

#### 1. Résultats et discussion bactériologiques

Les tableaux récapitulent tous les détails : la date de l'échantillonnage, la durée de l'analyse, les différents milieux sur lesquels on a réalisé les ensemencements, les repiquages et les isolements, puis les noms des bactéries identifiées, à l'aide des galeries API 20E et API 20NE, sont représentés en annexe ; des tableaux résumés sont représentés là. Enfin, l'étude de résistance aux antibiotiques (Antibiogramme), mettant un profil à chaque bactérie isolée.

##### 1.1. Résultats d'isolement et d'identification

###### 1.1.1. Résultats du mois de Mai

Le dénombrement sur gélose nutritive montre la charge colossale des échantillons. La flore bactérienne importante en nombre autant qu'en genre n'est pas toujours facile et possible de maîtriser en évidence.

Comme la gélose nutritive n'est pas un milieu sélectif on a pu voir aussi la croissance des champignons confirmés par examen microscopique mais non identifiés jusqu'aux espèces exactes faute de leur étude délicate et du temps nécessaire pour cela ; ainsi les recherches bibliographiques n'ont pas évoqué d'important rôle des champignons dans l'épuration des eaux (Singleton, 2005).

Les résultats obtenus lors du premier mois montrent l'isolement de 14 souches probablement identifiées par galerie API comme : *Aeromonas hydrophila*, *Alcaligenes denitrificans*, *Citrobacter farmeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* 1, *Flaviomonas horzyi*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens* et *Vibrio fluvialis*.

On remarque que toutes ces souches appartiennent au même embranchement (*Proteobacteria*) et 92.85% sont de la même classe (*Gammaproteobacteria*) - dont plusieurs appartiennent aux mêmes ordres voir la même famille - et seule la souche du genre *Alcaligenes* présente la classe des *Betaproteobacteria*.

Neuf bactéries des souches identifiées sont de la famille des *Enterobacteriaceae* l'une des plus importantes familles de bactéries, autant du point de vue quantitatif que du point de vue qualitatif. Elle regroupe ainsi de nombreux genres, très ubiquitaires. On définit classiquement les entérobactéries par 7 critères (mais il faut faire attention, certains genres ne répondent pas forcément à tous ces critères et font aujourd'hui partie de cette famille) : Bacilles Gram négatif

de dimension moyenne (coccobacille, souvent polymorphe), Non exigeants (culture facile sur les milieux usuels en 24 h à 37°C), oxydase négative, nitrate réductase positive (capables de réduire les nitrates en nitrites), aéro-anaérobies facultatifs, voie fermentaire de dégradation du glucose (avec ou sans production de gaz), immobiles et non sporulés (**Joly & Reynaud, 2003 ; Garrity et al., 2001, 2002, 2003, 2004, 2007**). Après la détermination de la famille des *Entérobactériaceae*, Une galerie de famille est nécessaire pour déterminer le genre et l'espèce (galerie d'identification Api20E). Certains caractères biochimiques particuliers permettent de définir des biotypes à l'intérieur d'une espèce.

La plus grande fréquence d'apparition été celle d'*E. coli* I qui a été pratiquement présente dans tous les ouvrages (*E.coli* exprime les caractères généraux des entérobactéries et en outre lactose +, indole +, acétoïne -, citrate -, H<sub>2</sub>S -, gaz +, uréase -).

A la poursuite deux membres du groupe des "KEHS" à VP+, *Enterobacter cloacae* avec une fréquence de quatre isollements (A, C, F, G) et *Klebsiella oxytoca* a été identifiée dans les eaux brutes à l'entrée de la STEP et *Klebsielle pneumoniae* dans les trois ouvrages de la suite (B, C, D).

Les *Citrobacter* (facilement obtenue sur gélose nutritive colonies lisses, légèrement convexes, translucides ou opaques, à contour régulier et leurs diamètres est de 2 à 4 mm après 24 heures d'incubation à 35°C ou à 37°C, entérobactéries ayant en commun la capacité d'utiliser le citrate comme seule source de carbone) ont pu être observées dès l'ajout des boues activées (**Cloppet et al., 1977 ; Farmer III, 1999**).

*Morganella morganii* et *Proteus vulgaris* deux germes produisent des désaminases saprophytes et connues comme des germes d'eaux d'égouts avec succès.

*Proteus vulgaris* est un germe qui envahie la surface de la gélose en formant des halos de culture en ondes concentriques à partir du point d'inoculation, il est présent dans les ouvrages B, C et D c'est un germe qui élimine la matière organique avec alcalinisation du milieu dû à l'uréase.

On a pu isoler une *Pseudomonas fluorescens* à partir de prélèvement des eaux airées, ce germe de la famille des *Pseudomonadaceae* genre *Pseudomonas* est un véritable saprophyte des eaux. Un bacille à Gram négatif qui se développe facilement sur milieux usuels, aérobie strict, mobile, incapable de fermenter les sucres avec production d'oxydase, l'odeur caractéristique des cultures et la présence de pigments sont aussi des critères d'orientation très probants (**Anzai et al., 2000**).

*Serratia marcescens* la bactérie aux jolies colonies rouges sur milieu ordinaire qui provient d'un pigment, la "prodigiosine", très protéolytique, liquéfient la gélatine et produisent une lipase a été

isolée deux fois dans cette prise d'échantillon ; dans le bassin d'anoxie et les boues (**Yu, 1979 ; Hejazi & Falkiner, 1997 ; Bennett & Bentley, 2000**).

Enfin, dans cette semaine du mois de mai on a pu identifier une *Vibrio fluvialis* dans le bassin d'anoxie et le clarificateur. Ce germe extrêmement mobile, se cultive à de forte concentration en NaCl (10 à 30 g/l) et sa croissance n'est pas entravée par l'ajout de différents inhibiteurs tels que les sels biliaires, citrate de sodium, thiosulfate de sodium (**Baumann & Schuber, 1984 ; Farmer III et Janda, 2005**).

**Tab. 3.1 :** Les souches identifiées le mois de Mai et leurs profils d'antibiogramme.

Nom de la souche		Profil d'antibiogramme
A1	<i>Citrobacter farmeri</i>	Sauvage
A2	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
A3	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
A4	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Sauvage
B1	<i>Citrobacter farmeri</i>	Sauvage
B2	<i>Citrobacter freundii</i>	Céphalosporinase
B3	<i>Escherichia coli 1</i>	Céphalosporinase
B4	<i>Proteus vulgaris</i>	BLSE+PHN
B5	<i>Klebsielle pneumoniae</i>	Sauvage
C1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Penicillinase
C2	<i>Enterobacter cloacae</i>	CHN
C3	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
C4	<i>Flaviomonas horyzihabita</i>	ND
C5	<i>Klabsiella oxytoca</i>	BLSE
C6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TRI
C7	<i>Proteus vulgaris</i>	BLSE+PHN
C8	<i>Morganella morganii</i>	BLSE+PHN
C9	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Sauvage
D1	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
D2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TRI + IMP
D3	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage
D4	<i>Proteus vulgaris</i>	BLSE+PHN
D5	<i>Vibrio fluvialis</i>	ND
E1	<i>Alcaligenes denitrificans</i>	Sauvage
E2	<i>Citrobacter freundii</i>	Sauvage
E3	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
E4	<i>Flaviomonas horyzihabita</i>	ND
E5	<i>Morganella morganii</i>	BLSE
E6	<i>Vibrio fluvialis</i>	ND
F1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Sauvage
F2	<i>Citrobacter freundii</i>	Sauvage
F3	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
F4	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
G1	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
G3	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
G2	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage

### 1.1.2. Résultats du mois de Juin

Les bactéries qu'on a pu identifiées pendant cette deuxième série d'étude sont 12 souches toutes Gram négatif avec une quasi-totalité des entérobactéries : *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter farmeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli 1*, *Flaviomonas horzyihabitata*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsielle pneumoniae*, *Serratia marcescens*, et *Vibrio fluvialis* (**Garrity et al., 2001, 2002, 2003, 2004, 2007**).

*Alcaligenes denitrificans* de la classe des *Betaproteobacteria* et *Sphingomonas paucimobilis* qui représente la classe des *Alphaproteobacteria*.

*E. coli 1* est présente dans tous les bassins sans exception ce qui mit en évidence sa capacité de survivre en toute circonstance ; c'est une bactérie ubiquitaire avec succès.

En suite viennent *Citrobacter freundii* -capables d'utiliser le citrate de sodium comme unique source de carbone, ONPG positive, LDC négative, phénylalanine désaminase négative et Voges-Proskauer négative (**Farmer III, 1999 ; Monnet & Freney, 2000**)- et *Enterobacter cloacae* avec un taux de fréquence de quatre bassins, elles sont toutes les deux présentes dans l'eau brute et l'eau traitée à la différence de l'isolement de *Citrobacter freundii* dans le clarificateur et *Enterobacter cloacae* dans la boue en excès destinée à des fins d'agriculture.

*Klebsielle pneumoniae* l'entérobactérie immobile, capsulée forme sur milieux solides de grosses colonies muqueuses, luisantes prend la troisième position car isolée de trois bassins successive ; B, C et D qui sont donc les trois bassins des phénomènes biologiques (**Rashid & Ebringer, 2006 ; Berrie, 2007**).

A taux de présence dans deux bassins *Aeromonas hydrophila* (la bactérie des eaux douces et peu salines plus présentes au cours des saisons chaudes mais capable de se multiplier dès que les températures sont supérieures à 5°C), *Citrobacter farmeri*, *Flaviomonas horzyihabitata* le germe de couleur jaunâtre, oxydase- nommé aussi *Pseudomonas oryzihabitans* (**Anzai et al., 2000 ; Dussart-Baptista, 2007**), *Klebsiella oxytoca* la *Klebsiella* indole positif, RM négatif, *Serratia marcescens*, *Vibrio fluvialis* et *Sphingomonas paucimobilis* la bactérie typique de l'ordre des *Sphingomonadales* des *Alpha Proteobacteria* connu par sa capacité à dégrader la lignine en bi-phenyle. Sous microscope et à l'états frais on constate sa mobilité lente par flagelle polaire (**Madigan & Martinko, 2005 ; Norris et al., 2007**).

Parmi ces sept bactéries seule *Aeromonas hydrophila* a été isolée à partir des eaux traitées.

Enfin, *Alcaligenes denitrificans* est définie par un métabolisme strictement respiratoire et d'une ciliation péri-triche elle a été identifiée seulement dans le bassin d'anoxie qui est vraiment son milieu favorable où elle assure la dégradation des nitrates et nitrites par respiration anoxygénique en absence d'oxygène libre mais plutôt des produits oxydés (**Pathmalal, 2000 ; Madigan et Martinko, 2005**).

On peut constater que parmi les cinq souches isolées à partir des eaux brutes seulement deux ont réapparues dans les eaux traitées ; l'étude a un intervalle de confiance très faible.

**Tab. 3.2:** Les souches identifiées le mois de Juin et leurs profils d'antibiogramme.

Nom de la souche		Profil d'antibiogramme
A1	<i>Citrobacter farmeri</i>	Sauvage
A2	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
A3	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
A4	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Sauvage
A5	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	ND
B1	<i>Citrobacter farmeri</i>	Sauvage
B2	<i>Citrobacter freundii</i>	CBN
B3	<i>Escherichia coli 1</i>	Céphalosporinase
B4	<i>Klebsielle pneumoniae</i>	PHN
C1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Penicillinase
C2	<i>Enterobacter cloacae</i>	CHN
C3	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
C4	<i>Flaviomonas horyzihabita</i>	
C5	<i>Klebsiella oxytoca</i>	BLSE
C6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TRI
D1	<i>Alcaligenes denitrificans</i>	Sauvage
D2	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
D3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TRI + IMP
D4	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage
D5	<i>Vibrio fluvialis</i>	ND
E1	<i>Vibrio fluvialis</i>	ND
E2	<i>Citrobacter freundii</i>	Sauvage
E3	<i>Flaviomonas horyzihabita</i>	
E4	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
F1	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
F2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Sauvage
F3	<i>Citrobacter freundii</i>	Sauvage
F4	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
G1	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
G2	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage
G3	<i>Escherichia coli 1</i>	PHN
G4	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	ND

### 1.1.3. Résultats du mois de Juillet

Les résultats bactériologiques de ce mois montrent une présence des germes des deux mois précédents mais avec l'apparition de nouvelles souches pour atteindre une biodiversité bactérienne visiblement plus importante qui a probablement pour cause l'effet de la saison estivale et l'augmentation de la température des eaux sensiblement touchées pendant cette période.

Les souches identifiées sont 19 dont des souches qui n'appartiennent pas à la classe des *Gamma* mais des *Alpha Proteobacteria* (*Sphingomonas paucimobilis*) et des *Beta Proteobacteria* (*Alcaligenes denitrificans*), les souches identifiées renferment aussi de nouveaux membres de la famille des *Enterobacteriaceae*.

On invoque ainsi par ordre alphabétique *Acinetobacter junii*, *Aeromonas hydrophila*, *Alcaligenes denitrificans*, *Citrobacter farmeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* 1, *Flaviomonas horyzihabita*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella lacunata*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia ficaria*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Vibrio fluvialis*.

Sur le podium et sans aucune concurrence la fabuleuse *Escherichia coli* 1 toujours présente dans tous les bassins depuis l'entrée de l'eau et jusqu'à sa sortie en aval.

En deuxième position c'était *Enterobacter cloacae* et *Proteus vulgaris* qui se présentent dans cinq bassins A, B, C, F et G et A, B, C, E et G successivement. Là, *Proteus mirabilis* du même genre que *P. vulgaris* n'apparaît pas dans les eaux brutes, et donc présente que dans quatre bassins.

En troisième position, d'ordre d'apparition c'est *Acinetobacter junii*, *Morganella morganii* et *Sphingomonas paucimobilis* qui sont présentes dans quatre ouvrages différents pour chacune ; voir tableau des résultats de ce mois.

*Citrobacter freundii* cherche juste à garder le même niveau d'apparition qu'on a vu dans les prélèvements précédents avec presque les mêmes bassins dans les quelles elle a pu être isolée B, E et F on remarque qu'elle apparaît toujours dès l'ajout des boues au bassin de contact.

Les souches qui ont pu être isolées avec une fréquence de deux bassins ont été nombreuses ce sont : *Aeromonas hydrophila*, *Flaviomonas horyzihabita*, *Klebsiella oxytoca*, *Moraxella lacunata*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia ficaria*, *Vibrio fluvialis*.

En dernière position, les bactéries *Alcaligenes denitrificans* (D), *Citrobacter farmeri* et *Klebsiella pneumoniae* (en B), *Pseudomonas fluorescens* (C).

Du point de vu bassin / souches isolées c'est le bassin C qui possède la plus grande diversité bactérienne avec 12 bactéries isolées de cet échantillon seul. Ces résultats peuvent être expliqués par le nouveau système d'aération récemment adopté dans la STEP et qui est différent de celui qui a été choisi auparavant.

Une remarque à faire aussi pendant cette suite d'échantillonnage est que l'eau brute a dévoilé seulement cinq germes au moment où l'eau traitée quitte la STEP avec six et la boue en contient sept. Si on parle de E et G ensembles comme des produits de l'épuration, on peut dire qu'il y a au totale la disparition de *Klebsiella oxytoca* au cours du processus et apparition de cinq nouveaux germes *Aeromonas hydrophila*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Moraxella lacunata*, *Proteus mirabilis* et *Sphingomonas paucimobilis*.

Enfin, on constate que seules *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli* 1 sont présentes dans l'eau brute, traitée et la boue.

**Tab. 3.3 :** Les souches identifiées le mois de Juillet et leurs profils d'antibiogramme.

Nom de la souche		Profil d'antibiogramme
A1	<i>Acinetobacter junii</i>	Sauvage
A2	<i>klebsiella oxytoca</i>	Sauvage
A3	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
A4	<i>Proteus vulgaris</i>	BLSE+PHN
A5	<i>Eschirichia coli 1</i>	Penicillinase
B1	<i>Klebsielle pneumoniae</i>	Sauvage
B2	<i>Escherichia coli 1</i>	Céphalosporinase
B3	<i>Morganella morganii</i>	ND
B4	<i>Citrobacter freundii</i>	Céphalosporinase
B5	<i>Proteus vulgaris</i>	ND
B6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ND
B7	<i>Enterobacter cloacae</i>	ND
B8	<i>Citrobacter farmeri</i>	Sauvage
C1	<i>Flaviomonas horzyihabita</i>	Sauvage
C2	<i>Acinetobacter junii</i>	ND
C3	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Penicillinase
C4	<i>Klabsiella oxytoca</i>	BLSE
C5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Sauvage
C6	<i>Enterobacter cloacae</i>	ND
C7	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	ND
C8	<i>Proteus mirabilis</i>	ND
C9	<i>Morganella morganii</i>	ND
C10	<i>Proteus vulgaris</i>	ND
C11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ND
C12	<i>Escherichia coli 1</i>	Sauvage
D1	<i>Acinetobacter junii</i>	ND
D2	<i>Alcaligenes denitrificans</i>	ND
D3	<i>Serratia ficaria</i>	Sauvage
D4	<i>Vibrio fluvialis</i>	ND
D5	<i>Morganella morganii</i>	ND
D6	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	ND
D7	<i>Moraxella lacunata</i>	ND
D8	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
E1	<i>Vibrio fluvialis</i>	ND
E2	<i>Citrobacter freundii</i>	Sauvage
E3	<i>Proteus mirabilis</i>	ND
E4	<i>Proteus vulgaris</i>	ND
E5	<i>Flaviomonas horzyihabita</i>	ND

E6	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	ND
E7	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
F1	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
F2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Sauvage
F3	<i>Citrobacter freundii</i>	Sauvage
F4	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	ND
F5	<i>Moraxella lacunata</i>	ND
F6	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
G1	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
G2	<i>Proteus mirabilis</i>	BLSE+PBN
G3	<i>Proteus vulgaris</i>	BLSE+PHN
G4	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage
G5	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
G6	<i>Acinetobacter junii</i>	Sauvage
G7	<i>Morganella morganii</i>	BLSE+PBN

### 1.1.4. Résultats du mois d'Aout

Cette dernière série de prélèvement a été effectuée pendant une journée pluviale quoique les paramètres physico-chimiques n'aient pas été affectés quand aux résultats de bactériologie la diversité des germes isolés et identifiés a été légèrement diminuée probablement suite à une dilution des eaux de tous les ouvrages ainsi qu'à la charge entrée des eaux brutes.

Les germes identifiés ont été 15 : *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter farmeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* 1, *Flaviomonas horyzihabita*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumonia*, *Moraxella lacunata*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Vibrio fluvialis*.

Toutes les souches ont été déjà rencontrées aux séries d'échantillonnages précédentes à la différence des taux d'apparition dans chaque ouvrage.

Toutefois *E.coli* réussit à voir place dans tous les bassins sans exception et *Proteus vulgaris* arrive cette fois en deuxième position en s'isolant de six bassins les quatre premiers de suite A, B, C et D. On n'a pas pu isoler à partir des eaux du clarificateur mais elle réapparaît dans les eaux traitées et les boues.

Aucune bactérie n'a pu être isolée de cinq bassins de suite seules *Enterobacter cloacae* et *Morganella morganii* ont parvenu à être visibles dans quatre ouvrages A, C, F et G pour la première et A, B, D et G pour la deuxième.

En suite, c'est *Citrobacter freundii* et *Klebsiella pneumonia* qu'on a isolé de trois prélèvements B, E et F pour *C. freundii* et B, C et D pour *K. pneumonia*.

Les germes identifiés deux fois sont bien nombreux : *Aeromonas hydrophila* (C, F), *Citrobacter farmeri* (A, B), *Flaviomonas horyzihabita* (C, E), *Klebsiella oxytoca* (A, C), *Proteus mirabilis* (B, C), *Serratia marcescens* (D, F) et *Vibrio fluvialis* (D, E).

Enfin les bactéries *P. fluorescens* et *M. lacunata* n'apparaît qu'une fois la première depuis le bassin C et la deuxième depuis les boues en excès.

**Tab. 3.4 :** Les souches identifiées le mois d'Aout et leurs profils d'antibiogramme.

Nom de la souche		Profil d'antibiogramme
A1	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Sauvage
A2	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
A3	<i>Proteus vulgaris</i>	BLSE
A5	<i>Morganella morganii</i>	BLSE+PHN+CHN
A6	<i>Citrobacter farmeri</i>	Sauvage
A7	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
B1	<i>Klebsielle pneumoniae</i>	Sauvage
B2	<i>Escherichia coli 1</i>	Céphalosporinase
B3	<i>Proteus mirabilis</i>	BLSE+PHN
B4	<i>Citrobacter farmeri</i>	Sauvage
B5	<i>Citrobacter freundii</i>	Céphalosporinase
B6	<i>Morganella morganii</i>	BLSE
B7	<i>Proteus vulgaris</i>	BLSE+PHN
C1	<i>Flaviomonas horyzihabita</i>	ND
C2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Penicillinase
C3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TRI
C4	<i>Proteus mirabilis</i>	Sauvage
C5	<i>Proteus vulgaris</i>	Sauvage
C7	<i>Klebsiella oxytoca</i>	BLSE
C8	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Sauvage
C9	<i>Enterobacter cloacae</i>	CHN
C10	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
D1	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage
D2	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
D3	<i>Proteus vulgaris</i>	BLSE+PBN
D4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TRI + IMP
D5	<i>Vibrio fluviatis</i>	ND
D6	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
E1	<i>Vibrio fluviatis</i>	
E2	<i>Citrobacter freundii</i>	Sauvage
E3	<i>Flaviomonas horyzihabita</i>	
E4	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
F1	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage
F2	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
F3	<i>Proteus vulgaris</i>	BLSE
F4	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Sauvage
F5	<i>Citrobacter freundii</i>	Sauvage
F6	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase

G1	<i>Morganella morganii</i>	PHN
G2	<i>Proteus vulgaris</i>	BLSE
G4	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sauvage
G5	<i>Escherichia coli 1</i>	Penicillinase
G6	<i>Moraxella lacunata</i>	Sauvage

### 1.2. Résultats des antibiogrammes

La réalisation d'un antibiogramme à la fin de chaque série d'identification des différents germes est une analyse qui n'a jamais été faite auparavant dans des prélèvements des eaux usées.

Le but n'est pas de cibler des antibiotiques actifs sur le germe pour l'éliminer ; comme dans le cas analyses médicales ; mais plutôt pour maitre en évidence si les souches en questions sont elles sauvages ou elles sont déjà passées par un milieu hospitalier ou d'origine fécale des bétails mis aux contacts des antibiotiques d'où elles ont pu acquérir une résistance. Les souches résistantes sont dangereuses pour la réutilisation des eaux et des boues pour l'arrosage, l'irrigation et l'amendement des sols.

Cette partie de l'étude proposée par **Pr. ATTIYA** a été réalisée pour déterminer la qualité microbienne des eaux traitées qui :

- Vont rejoindre l'Oued où des pompes d'irrigation sont installées.
- Plus loin les eaux traitées vont regagner le barrage de **Timgad** un système aquatique vivant qui à sa propre faune et flore d'eaux douce, signalent aussi que les eaux du barrage sont destiné à la consommation humaine via une station de traitement.

Donc pour une réutilisation durable des eaux épurées et des boues l'exigence de la qualité de ces eaux est primordiale pour la santé publique et l'environnement, c'est l'objectif du projet de MEDAWARE par l'Association Euro Méditerranéenne pour le Développement Local (**Fatta D. et al., 2004 a ; 2004 b ; 2005 et 2006**).

La désinfection des eaux usées élimine les microbes, mais elle est relativement coûteuse et n'est pas à la portée des STEP de notre état en voie de développement.

Comme les eaux traitées ne subissent aucune désinfection à la fin du procédé d'épuration la présence des microorganismes pathogène confirmée pour les bactéries et les protozoaires dans ce travail (sachant que les eaux peuvent contenir en plus des helminthes et des virus qui ne sont pas entamés dans cette étude). Ces pathogènes peuvent donc devenir un risque redoutable pour la santé publique en cas d'ingestion de l'eau ou des aliments contaminés surtout celles à

consommation crue tel la salade verte un légume qui cause souvent des intoxications, diarrhées, gastroentérites, entérites, dysenterie, adénite, méésentérique et fièvres septicémiques graves...etc.

Outre la résistance naturelle aux antibiotiques actifs sur les Gram positifs (pénicillines G et M et macrolides), les entérobactéries présentent fréquemment une résistance aux antibiotiques à large spectre auxquels elles sont normalement sensibles. Cette résistance est conditionnée par la présence de plasmides.

Certaines d'entre elles sont naturellement résistantes à d'autres molécules : les *Proteus* et *Serratia* à la colistine et les *Klebsiella* à l'ampicilline.

Les aminosides, quinolones et phénicolés sont normalement actifs contre les entérobactéries mais les résistances acquises sont fréquentes.

Ces résistances définissent des phénotypes die "sensibles" ou "sauvages"(OMS & AARN, 2008).

*Escherichia coli* est généralement sensible aux antibiotiques. Parmi les  $\beta$ -lactamines actives les pénicillines du groupe A, les carboxypénicillines, les céphalosporines, les acyluréido-pénicillines, les carbapénems et les monobactams. Les aminosides et les polypeptides sont également actifs de même que les quinolones de première génération, les fluoroquinolones et le cotrimoxazole.

Cette sensibilité peut être modifiée par la production d'enzymes hydrolysant les  $\beta$ -lactamines et les aminosides ou par une mutation affectant les porines.

Les souches de *Citrobacter sp.* sont généralement sensibles à la gentamicine, à la tobramycine, à l'amikacine, au chloramphénicol, à la colistine, à la ciprofloxacine et à l'imipénème.

Depuis quelques années, la résistance des *Citrobacter sp.* augmente et notamment la résistance des espèces du complexe *Citrobacter freundii* vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération et des quinolones (Brenner *et al.*, 1999).

Une résistance est observée pour l'ampicilline, la streptomycine, les sulfamides et même à l'association amoxicilline/acide clavulanique chez les espèces du complexe *Citrobacter freundii*, les carbapénems restent généralement actives ainsi que les aminosides et fluoroquinolones souvent efficaces.

*Enterobacter cloacae* aussi oppose une résistance naturelle aux pénicillines A et aux C1G. Elle acquit souvent une polyrésistance, en particulier aux  $\beta$ -lactamines par production d'une céphalosporinase déréprimée.

Les *Klebsiella* produisent une pénicillinase constitutive qui leur confère une résistance naturelle aux amino et carboxypénicillines. Des  $\beta$ -lactamases dites "à spectre étendu", récemment mises en évidence, rendent les souches productrices résistantes à toutes les  $\beta$ -lactamines sauf les céphamycines et les carbapénems.

Les bactéries du genre *Proteus* et *Serratia* opposent une résistance naturelle aux antibiotiques polypeptidiques. Les *Proteus* dits "indologènes" sont beaucoup plus résistants aux antibiotiques que *Proteus mirabilis*.

Pour être bref et efficace les résultats des antibiogrammes seront entamés globalement on désigne les germes sauvages et ceux qui ont présentés une résistance bien définie.

### 1.2.1. Résultats du mois de Mai

Parmi les 36 germes identifiés dans les différents ouvrages de la STEP pendant le premier mois d'étude, l'antibiogramme a dévoilé neuf profils phénotypiques vis-à-vis des 18 antibiotiques testés.

Les *E. coli* 1 identifiées dans tous les bassins ont présenté un phénotype pénicillinases à l'exception de celle identifiée dans le bassin B a été de profil céphalosporinases ce qui est peut être dû à une erreur de manipulation ou de lecture des résultats (malgré que les antibiogrammes non catégoriques sont bien refait à chaque fois qu'un doute s'installe).

Quatorze bactéries ont présenté des phénotypes sauvages dans la présence du même germe dans plus d'un ouvrage indique que c'est éventuellement le même germe.

Outre la présence d'une même souche avec des profils différents dans la même série a été fortement marquée ce qui nous conduit à conclure que ce n'est peut être pas la même souche isolée dans les différents ouvrages dans lesquelles elle était identifiée, c'est le cas de *Citrobacter freundii* identifiée à deux reprises pour un phénotype sauvage et dans une troisième pour une céphalosporinases et *Morganella morganii* présente en deux phénotypes à même taux de répétition un BLSE+PHN et l'autres pour BLSE seulement.

*Citrobacter freundii* isolée à trois reprises dont une montre le phénotype céphalosporinases quand les autres ont une empreinte sauvage.

*Klebsiella pneumoniae* est présente trois fois avec trois différents phénotypes : sauvage, TRI et TRI+IMP, c'est donc probablement trois différentes souches isolées.

*Klebsiella oxytoca* elle aussi a présenté deux profils au contact des antibiotiques un sauvage et l'autre BLSE.

Pour *Enterobacter cloacae* dans quatre apparitions une seule souche était CHN au moment où les autres isolats ont montré un profil sauvage.

*Aeromonas hydrophila* est présente une seule fois comme une souche pénicillinase.

*Proteus vulgaris* a gardé le même phénotype dans tous ses isolats, elle était BLSE+PHN.

Pour les deux souches *Vibrio fluvialis* et *Flaviomonas horyzihabita* l'antibiogramme était bien réalisé mais la lecture des résultats et la déduction du phénotype n'a pas eu lieu faute d'un manque de bibliographie et du personnel qualifié d'une telle connaissance car ces deux bactéries ne sont pas étudiées en clinique et très rarement pathogènes.

*Serratia marcescens* rose en tapie d'antibiogramme a donné des résultats clairs d'une souche franchement sauvage ainsi que *Al. denitrificans*, *C. farmeri* et *Ps. fluorescens*.

On peut donc résumer les résultats comme suite :

- 39% des souches sont typiquement sauvages ;
- 20% sont des pénicillinases dont la majorité revient à une seule souche *E.coli* ;
- 12% ont montré un profil bien définie BLSE+PHN ;
- 8,33% sont des profils qu'on n'a pas put déterminés ;
- 5,55% pour chacun des phénotypes BLSE et céphalosporinases ;
- 3% pour les profils CHN, TRI et TRI+IMP.

### 1.2.2. Résultats du mois de Juin

Dans cette série d'antibiogrammes on a encore noté neuf phénotypes sachant que les souches *Flaviomonas horyzihabita* et *Sphingomonas paucimobilis* n'ont pas la chance d'avoir un antibiogramme car même achevé on ne peut pas en tirer conclusion par insuffisance de données bibliographiques solides.

Brièvement, les résultats sont les suivant :

- 37,5% des souches isolées des différents bassins sont sauvages dont on cite *Citrobacter farmeri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Alcaligenes denitrificans* et bien sur *Serratia marcescens*.
- 18,75% pénicillinases dont une correspond à *Aeromonas hydrophila* tandis que le reste de la part fut présenté *E. coli* ;
- 6,25% PHN dont une *E. coli* et une *K. pneumoniae* ;
- 3,125% pour les phénotypes :

- CBN représenté par *Citrobacter freundii* qui a donc deux profils car déjà cité parmi les sauvages,
- Céphalosporinases symbolisé par *E.coli* présente en trois phénotypes ce mois là,
- CHN correspond à *Aeromonas hydrophila* une deuxième souche à deux profils dont le premier est pénicillinase.
- BLSE ressemble à *K. oxytoca* comme son deuxième profil puisque cité également parmi celles sauvages ;
- TRI et TRI+IMP pour la dangereuse *K. pneumoniae* concorde donc trois phénotypes différents avec celui cité autant que PHN.
- 20% non déterminés car correspond aux deux souches non étudiées *Flaviomonas horyzihabita* et *Sphingomonas paucimobilis*.

### 1.2.3. Résultats du mois de Juillet

C'est bien dommage que les antibiogrammes de cette période ont été mal fait faute de manque de disques antibiotiques épuisé par cette étude qui a demandée des quantités énormes de boîtes-Pétrie et de disques d'antibiotiques, n'empêche qu'avec le peu disponible les résultats qu'on a su déduire avec toute loyauté sont :

Parmi les cinquante trois isolats des différents ouvrages – car cette série était mentionnée ci-dessus comme la plus diversifiée – seulement vint neuf ont eu un antibiogramme plus au moins parfait pour les dix-huit antibiotiques testés.

Préférentiellement on a favorisé de bien faire les antibiogrammes des souches d'eau brute et celles isolées depuis l'eau traitée et la boue comme ils représentent le début et la fin du processus d'épuration.

Les résultats en pourcentage qui vont être représentés dans les lignes ci-dessous ne négligent pas les souches pour les quelles on n'a pas dressé un antibiogramme ce qui a affecté considérablement les valeurs devinés car à elles seules elles représentent 45,28%.

Le manque de disques a frappé fort la diversité des phénotypes notés car on cite clairement six profils dont il en manque un tiers pour atteindre la diversité des deux mois précédents.

- Permis 54,72% des souches antibiogrammées 30,2% sont définies comme sauvages,
- 11,3% comme des pénicillinases avec un seul cas d'*Aeromonas hydrophila* à contrepartie de cinq cas d'*E. coli*,

- 3,77% pour chacun des phénotypes céphalosporinases, BLSE+PHN exclusivement représenté par *Proteus vulgaris* et BLSE+PBN pour *Proteus mirabilis* et *Morganella morganii* une souche du même genre.

- Enfin, solitaire *K. oxytoca* déclare un phénotype BLSE en symbolisant moins de 2%.

### 1.2.4. Résultats du mois d'Aout

Les antibiogrammes de cette série d'analyses ont été bien réalisés et les résultats sont beaucoup plus fiables que ceux d'avant, ainsi on a mis en évidence onze différents phénotypes dans quarante trois isolats.

*Aeromonas hydrophila* ne sort jamais de l'ordinaire elle est constamment pénicillinase.

*E. coli* sort un peu de son coutume d'être pénicillinases avec succès et s'étende cette fois ci pour une céphalosporinases.

Les *Citrobacter freundii* et *C.fameri* ainsi que *Pseudomonas fluorescens* et *Serratia marcescens* ont bien gardées la tradition d'être sauvage.

*K.oxytoca* montre deux phénotypes une souche sauvage et l'autre BLSE, tandis que *K. pneumoniae* s'étale à un phénotype de plus : sauvage, TRI et TRI+IMP.

*Enterobacter cloacae*, connus auparavant comme sauvage, garde la même altitude avec un seul cas CHN qui est fort possible un résultat erroné (faute de manipulation ou de lecture) une même erreur s'est éventuellement reproduite avec *Proteus mirabilis*. Ce germe est normalement le plus sensible de son genre montre un nouveau phénotype : BLSE+PHN qui n'a jamais été cité en bibliographie selon ces recherches. Le résultat est donc qualifié inexacte et erroné d'après le guide de standardisation de l'antibiogramme et selon les recommandations de l'OMS et l'ARRN 5ème édition (2008).

*Morganella morganii* se révèle douteuse avec quatre phénotypes différents l'un de l'autre, elle est de ce fait citée telle une bactérie sauvage, une BLSE, une PHN et finalement avec un profil polyrésistant autant qu'une BLSE+PHN+CHN signalent que cet antibiogramme a été refait en duplicata pour la confirmation et il a montré la même lecture. Ce dernier phénotype classe *Morganella morganii* telle une souche dite "indologènes" beaucoup plus résistante aux antibiotiques que celle sauvage. Cette aptitude de résistance aux antibiotiques est due à des gènes plasmidiques en surexpression.

*Proteus vulgaris* dévoile trois profils elle aussi : BLSE à trois reprise, une BLSE+PBN et une BLSE+PHN.

- 39,53% souches sauvages ;
- 16,28% pénicillinases ;
- 11,63% BLSE ;
- 9,30% des germe non étudiés coïncident à *Flaviomonas horyzihabita* et *Vibrio fluviatis*.
- 4,65% pour les deux profils : BLSE+PHN et céphalosporinases ;
- 2,33% pour chacun des six phénotypes : PHN, CHN, TRI, BLSE+CHN+PHN, BLSE+PBN et TRI+IMP.

D'après les résultats précédents on a dressé le tableau ci-dessous qui montre clairement les souches isolées pendant la totalité de l'étude.

**Tab. 3.5 :** Souches identifiées par galeries API.

	MAI	JUIN	JUILLET	AOUT
<i>Acinetobacter junii</i>	-	-	+	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	+	+
<i>Alcaligenes denitrificans</i>	+	+	+	-
<i>Citrobacter farmeri</i>	+	+	+	+
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	+
<i>Eschirichia coli 1</i>	+	+	+	+
<i>Flaviomonas horyzihabita</i>	+	+	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+	+
<i>Klebsielle pneumoniae</i>	+	+	+	+
<i>Moraxella lacunata</i>	+	-	+	+
<i>Morganella morganii</i>	-	-	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	+	+
<i>Proteus vulgaris</i>	+	-	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	+	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	-	+	+
<i>Serratia ficaria</i>	+	+	+	+
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-	+	+	-
<i>Vibrio fluviatis</i>	+	+	+	+
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>12</b>	<b>19</b>	<b>15</b>

Le tableau permet d'en déduire :

- Parmi dix-neuf souches isolées dix sont toujours présentes durant tout l'intervalle d'étude,
- Les trois souches *Moraxella lacunata*, *Proteus vulgaris* et *Pseudomonas fluorescens* ne s'absentent que dans la deuxième série de prélèvements et affectent considérablement la biodiversité bactérienne présente dans la STEP,

- Les bactéries les plus rarement isolés sont *Acinetobacter junii* et *Pseudomonas aeruginosa* mentionnées uniquement en mois de juillet.

Selon **Fatta** et ces collaborateurs (2004a ; 2004b ; 2005 ; 2006) et d'après les travaux de **Frank** et ses assistants (2002) et **De Lucas** et son équipe (2007) ; la présence d'une biocénose microbienne dans des eaux épurées par des boues activées peut être tolérée a des seuils plus au moins importants et acceptables.

Aucune organisation ni association ou service public qu'il soit national ou mondial n'a encore mis des lois de législation et/ou des normes pour la qualité microbiologique des eaux épurées. Cette situation est due aux aspects économiques ainsi qu'à la diversité de climat, géologie et géographie (**Fatta et al., 2005**). Des états ont établi des normes de réutilisation tels que la Californie, la France et l'Italie mais cela reste beaucoup plus focaliser sur la qualité physico-chimique.

On remarque que tous les projets de STEP réalisés par l'ONA ou sous sa direction sur tout le territoire national comportent des ouvrages de désinfections par chloration sauf que cette étape de finalisation du traitement n'est jamais mise en marche car elle est relativement coûteuse et n'est pas toujours à la portée d'un pays en voie de développement (**Fatta et al., 2005 ; ONA, 2007**).

**Fatta** et ces collaborateurs ont beaucoup travaillé sur la qualité microbiologique des eaux épurées pendant ces dernières années et dans différents pays méditerranéens dont on site la Chypre, la Jordanie, la Turquie et le Maroc dans le cadre du projet MEDWAR qui confirme que le procédé d'épuration des eaux par des boues activées n'est pas conçue pour éliminé les microorganismes pathogènes même dans des STEP où l'étape de désinfection est accompli. Mais ils exigent un minimum de qualité microbienne pour le respect de la santé publique et de l'environnement lorsque les eaux rejoignent des milieux naturelles ou utilisé pour les baignades et l'irrigation car ces microorganismes affectent l'humain par ingestion de l'eau et/ou les aliments contaminés (surtouts ceux dont la partie comestible est en contacte avec ces eaux et se consomme crus tel carottes, betteraves, oignons, poireaux, salades vertes, épinards, céleris, chicorés, choux, choux-fleurs...etc.).

Le tableau (**Tab. 3.6**) montre les limites maximales des microorganismes dans des eaux résiduelles épurées destinées pour l'irrigation selon les normes de Chypre :

**Tab. 3.6 :** Directives pour la qualité de l'eau usée utilisée pour l'irrigation en Chypre. (**Fatta et al, 2005**).

	Coliformes fécaux (par 100 ml)	Protozoaires (par litre)
Domaines à accès illimité	100	Zéro
Récoltes de la partie aérienne pour la consommation humaine, Domaines à accès limité	1000	Zéro

L'analyse bactériologique des eaux de Timgad dévoile bien des membres du groupe des coliformes fécaux telles : *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli 1*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* (rappellent que la colimétrie des eaux traitées a toujours donnée des résultats positives a des déluions de plus de  $10^{-20}$ ). On peut donc confirmer que la qualité de ces eaux n'est pas convenable ni pour être larguées dans un milieu naturelle et encore moins si il s'agit d'un barrage ni pour l'irrigation. De plus ce barrage est un biotope pour plusieurs espèces de poissons contaminés consommés par les habitants locaux.

**Dupray et Derrien** travaillaient sur le passage de deux genres des coliformes fécaux d'une STEP jusqu'à la mer -destiné finale des effluents- ont affirmé qu'en absence de désinfection les *Escherichia coli* et les *Salmonelles* rejoignent la mer avec une meilleur adaptation si plusieurs paramètres, comme la prédation par le zooplancton et la matière organique particulière, n'ont pas été pris en compte (**Dupray & Derrien ; 1995**).

Les résultats d'une étude des gènes ADNr 16S qui vise la biodiversité bactérienne au niveau d'une station d'épuration en Chine montre que la biodiversité bactérienne dans des boues activées est très importante (**Jiang et al., 2008**). Cela démontre que le groupe le plus dominant est celui des *Proteobacteria* qui représente 76.7%. Dont des  $\beta$ - *Proteobacteria* (39.8%), des  $\alpha$ - *Proteobacteria* (6.79%), des  $\delta$ - *Proteobacteria* (4.85%) et des  $\gamma$ - *Proteobacteria* (20.15%). En deuxième lieux les *Nitrosomonas* (1.94%), puis des *Nitrospira* (11.65) et finalement des incultivables (22.33%) (**Jiang et al., 2008**).

En classant les dix-neuf souches trouvées durant la période d'étude de la même façon que **Jiang** et ces collègues on obtient les résultats suivants :  $\alpha$ - *Proteobacteria* et  $\beta$ - *Proteobacteria* sont à égalité (5.26%) alors que  $\gamma$ - *Proteobacteria* affiche (89.47%).

Ce qui nous mène à dire que les  $\gamma$ - *Proteobacteria* (89.47%) sont les plus dominants dans notre étude mais ne représentent que (20.15%) dans l'étude de **Jiang** et son équipe.

De plus l'étude chinoise montre une dominance des  $\beta$ - *Proteobacteria* (39.8%) qui indiquent une minorité dans la notre (5.26%).

Les  $\alpha$ - *Proteobacteria* dévoilent des valeurs voisines dans les deux études (6.79%) et (5.26%) cependant les  $\delta$ - *Proteobacteria* (4.85), les *Nitrosomonas* (1.94%) et les *Nitrospira* (11.65) sont totalement inexistantes dans notre travail.

En dernier, les incultivables ont une proportion non négligeable (22.33%) mais elles ne sont pas prises en considération dans notre étude car les techniques sont inaccessible.

Ce contraste dans les deux études nous mène a dire que cela est fondamentalement due à des erreurs dans la notre puisque la méthode **Jiang** est d'une fiabilité et exactitude évidentes. Notre étude n'est qu'une approche bactériologique classique incapable de permettre la mise en évidence des incultivables.

Étant donné qu'on ne dispose que d'une étuve unique réglée à 35.5°C les *Nitrosomonas* et les *Nitrospira* n'ont pas pu être isolées car elles poussent à une température optimale de 30°C. De plus ces espèces nécessitent une incubation de trois à cinq jours ; une période incompatible avec le déroulement du cycle des prélèvements.

Une autre étude a base de PCR et l'analyse des ADNr 16S réalisée en Allemagne par l'équipe de recherche de **Jiri Snaidr** affiche les résultats suivants :

Parmi soixante-sept clones étudiés trente-cinq sont des  $\beta$ - *Proteobacteria* (52.24%), treize sont des  $\gamma$ - *Proteobacteria* (19.40%), huit sont des  $\delta$ - *Proteobacteria* (11.94%), quatre sont des  $\alpha$ - *Proteobacteria* (5.9%) et cinq sont des Gram-positives a faible GC (**Snaidr et al., 1997**).

Les résultats de cette étude renforcent ceux de **Jiang** puisque les pourcentages sont très proches.

Si on représente nos résultats selon les profils phénotypiques de résistance aux antibiotiques on obtient quinze profils différents.

**Tab. 3.7 :** Les phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches apparaissant pendant toute l'étude avec les pourcentages d'apparition.

Phénotype	Pourcentage d'apparition %			
	Mai	Juin	Juillet	Août
<b>Sauvage</b>	39,00	37,50	30,20	39,53
<b>BLSE</b>	5,55	3,13	1,88	11,63
<b>PHN</b>	0,00	6,25	0,00	2,33
<b>PBN</b>	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>CHN</b>	3,00	3,13	0,00	2,33
<b>CBN</b>	0,00	3,13	0,00	0,00
<b>TRI</b>	3,00	3,13	0,00	2,33
<b>TRI+IMP</b>	3,00	3,13	0,00	2,33
<b>Pénicillinases</b>	20,00	18,75	11,30	16,28
<b>Céphalosporinases</b>	5,55	3,13	0,00	4,65
<b>BLSE+PBN</b>	0,00	0,00	3,77	2,33
<b>BLSE+CHN+PHN</b>	0,00	0,00	0,00	2,33
<b>BLSE+PHN</b>	12,00	0,00	3,77	4,65
<b>ND</b>	8,33	20,00	0,00	0,00
<b>NE</b>	0,00	0,00	45,28	9,30
<b>Total *</b>	<b>99,43</b>	<b>101,25</b>	<b>99,97</b>	<b>100,02</b>

\*Sachant que les calculs du pourcentage ont été calculés à proximité de 0,00% d'où les totales ont touché à un seuil d'erreur toléré de  $x \pm 1,25\%$

Selon le tableau dressais ci-dessus on peut déduire que :

- Pendant quatre mois d'étude on a aperçu isolés 13 différents phénotypes,
- Les souches sauvages sont toujours présentes à un pourcentage d'au moins 30%,
- Les germes pénicillinases parviennent toujours en deuxième classe dans l'intervalle fermé [11,30-20%],
- Le phénotype BLSE+CHN+PHN est certainement inexacte et inexistant,
- Le manque des disques d'antibiotique a considérablement affecté l'analyse où près de la moitié des souches n'ont pas disposé d'antibiogramme,
- Les souches qu'on n'a pas pu trouver un phénotype précis ont donné des pourcentages importants loin d'être négligeables.

### 1.3. Résultats des examens microscopiques des protozoaires et métazoaires

L'examen microscopique des boues activées est une analyse très délicate, elle exige en premier lieu des boues fraîchement prélevée pour que la faune soit encore en vie, un bon microscope binoculaire un lexique photographier de la faune des boues et une bonne expérience et savoir faire pour une telle analyse.

A partir des boues fraîchement ramenées au laboratoire on prélève une goutte, on la met entre lame et lamelle et on observe au microscope en commençant du grossissement le plus faible x40 pour y arriver à x100.

Au cours des quatre mois de pratique on a rencontrés dix protozoaires dont les critères morphologiques et l'interprétation de les avoir observés au sein d'une boue sont résumés dans le tableau ci-dessous :

**Tab. 3.8 :** Morphologie et Interprétation de présence dans la boue des protozoaires et métazoaires rencontrés.

	<i>Longueur (<math>\mu\text{m}</math>)</i>	<i>Morphologie</i>	<i>Mode de regroupement</i>	<i>Interprétation de présence dans la boue</i>
<i>Epistylis rotans</i>	70-100	Corps en forme de vase ; couronne de cils large a la partie antérieure ; pédoncule segmenté	En colonies	Fonctionnement correcte de la station ; indicatrices de très bonne qualité d'effluents
<i>Vorticella communis</i>	20-30	Corps sphérique allongée, pédoncule inférieure a deux fois le corps, couronne de cils	Solitaire	Indicatrices d'une eau interstitielle de bonne qualité.
<i>Vorticella convallaria</i>	60-120	Une grande vorticelle en cloche avec couronne de cils large, pédoncule long	Solitaire	Ces espèces sont relativement fragiles à l'apport de toxiques et à un manque d'oxygénation. On les observe sur des installations où l'oxygène est présent en permanence.
<i>Zoothamnium pygmaeum</i>	70-80	Corps en forme de cloche, ciliature buccale large, pédoncule non segmenté	Plusieurs individus par pédoncule	Indicateur de faible charge, bonne capacité épuratrices de la pollution de carbone, et d'une aération permanente. La longueur du pédoncule est en relation avec le degré de traitement: plus le pédoncule est long, meilleur est le traitement.
<i>Tetes de vorticelles</i>	–	–	Solitaire	Le détachement de pédoncule sous l'influence de phénomènes mécaniques importants tel qu'un brassage violent, une aération intense.
<i>Aspidisca costata,</i> <i>A. sulcata,</i> <i>A. cicada</i>	25-45	Corps ovoïdes et aplati, cinq sillons foncés très visible sur la face dorsale, mobile par reptation	Solitaire	Très fréquemment rencontré, sa présence ne donne aucune indication sur la qualité du traitement.

<i>Tokophrya mollis</i>	50-70	Corps en pyramide, tentacules disposés en touffes de tentacules, pédoncule souple	Solitaire	Toujours présentes
<i>Rotifères digononta</i>	150-250	Métazoaire de corps macroscopique, pied composés de plusieurs articles.	Solitaire	Présent dans des boues de faible charge et d'âge élevé >15jours.
<i>Rotifères colurella</i>	200-250	Métazoaire a tête très distincte, avec une carapace rigide, pied segmenté	Solitaire	Sont présents dans des boues de faible charge et d'âge élevé.
<i>Tardigrade</i>	500	Un cops large d'un aspect de ver	Solitaire	Observé dans le domaine de faible charge, à âge de boue très élevés, en voie de stabilisation.

**Tab 3.9 :** Inventaire des protozoaires et métazoaires rencontrés dans la boue de la STEP de Timguad.

Examen microscopique de boues (G)										
La date de prélèvement	<i>Epistylis rotans</i>	<i>V. communis</i>	<i>V. convallaria</i>	<i>Zoothamnium pygmaeum</i>	têtes de Vorticelles	<i>Aspidisca costata</i> , <i>A. sulcata</i> , <i>A. cicada</i>	<i>Tokophrya mollis</i>	Rotifères digononta	Rotifères colurella	Tardigrade
11/05/2011	5	30	15	7	1	10	0	0	0	0
13/05/2011	0	25	17	10	2	20	0	0	0	0
13/05/2011	4	26	15	0	0	10	0	2	1	3
01/05/2011	5	17	14	0	1	15	0	0	0	0
07/06/2011	3	27	13	0	1	16	1	0	0	0
15/06/2011	0	18	10	0	0	11	0	0	0	0
22/06/2011	0	22	14	8	3	10	0	0	0	0
30/06/2011	0	25	8	6	12	12	2	0	0	0
11/07/2010	2	19	10	5	0	9	0	0	0	0
18/07/2011	4	15	15	7	5	11	1	0	0	0
24/07/2011	0	23	13	0	0	8	1	0	0	0
01/07/2011	1	20	9	5	13	16	0	0	0	0
09/08/2011	0	22	15	0	4	25	0	0	0	0
17/08/2011	0	24	12	4	0	14	2	1	0	0
23/08/2010	1	19	8	3	14	20	1	0	0	0
29/08/2011	2	25	9	0	15	22	0	0	0	0
05/09/2011	0	23	14	5	2	18	1	0	0	0
13/09/2011	0	25	14	7	0	24	1	0	0	0
22/09/2011	2	29	12	0	0	14	0	2	0	0
05/10/2011	0	26	10	0	11	16	0	0	0	0
20/10/2011	1	24	11	5	3	19	0	0	0	0
Total	30	484	258	72	87	320	10	5	1	3

Vu les résultats on peut donc affirmer une bonne qualité physico-chimique des effluents après l'épuration aux cours du processus épurateur de la STEP, bien que la qualité bactériologique de l'eau reste à discuter.

Quoique la charge bactérienne des eaux des deux cotés du processus (input/output ou bien inlet/outlet) n'a pas pu être définie par précision, la bibliographie de plusieurs auteurs admettent que la présence de protozoaires est proportionnel avec la réduction de la charge bactérienne à la fin des traitements par boues activées (**Heukelekian & Rudolfs, 1929 ; Curds & Vandyke, 1966 ; Curds & Cockburn, 1968 ; Curds et al., 1968 ; Adl, 2005 ; Corliss, 2005, Curds & Fey, 1969 ; Wilhelm, 2008**).

Les résultats de **Curds et Fey (1969)**, montre que l'ajout de protozoaires ciliés réduit la demi-vie des *E. coli* de 16 heures à 1.8 heure.

Toutes les références récentes affirment que les protozoaires constituent la base du réseau trophique aquatique car ils forment les prédateurs primaires de la chaîne (**Adl, 2005 ; Corliss, 2005 ; Curds & Fey, 1969 ; Wilhelm, 2008**). Toutes ces études affirment le phénomène de la prédation des bactéries par les protozoaires ce qui réduit la charge bactérienne des eaux épurées, ce qui est en parfaite concordance avec les résultats trouvés.

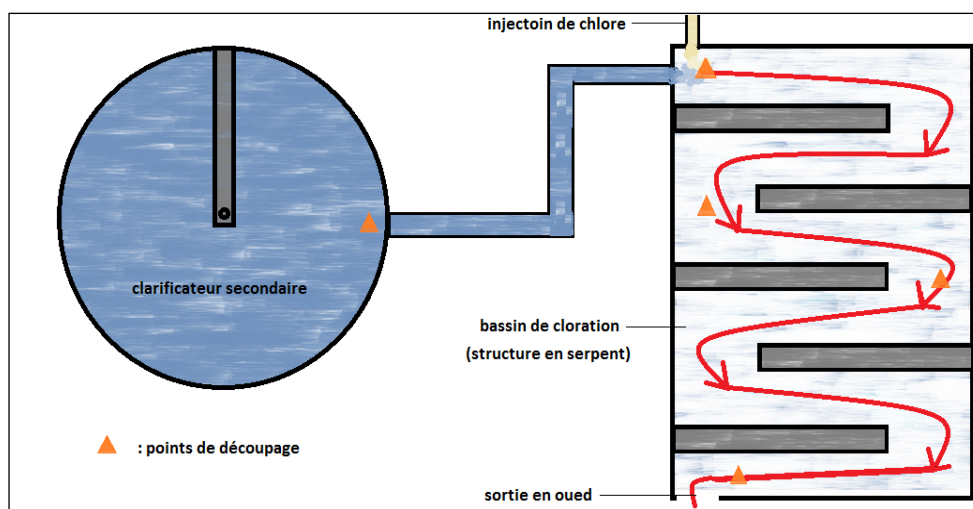
A cet égard, on constate que la qualité physico-chimique des eaux se dégrade considérablement en passant par le dernier ouvrage, qui est un bassin en forme de serpent emprunté pour la chloration des eaux durant un temps de séjour maximal.

L'absence de chloration engendre une remarquable colonisation de ce bassin par les arthropodes, une prolifération intense des algues ainsi qu'une large présence des bactéries filamenteuses.

Afin de confirmer ces observations, un découpage plus infime à ce niveau été d'une majeure nécessité (**Fig. 3.1, Tab. 3.10, Courbe 3.1-3.9**).

Les résultats obtenus affirment une dégradation de la qualité physico-chimique des eaux épurées à cette étape parce qu'il y a toujours augmentation dans la concentration des polluants mesurés.

Seule la salinité demeure à la même concentration dans les cinq prélèvements (**Courbe 3.3**).

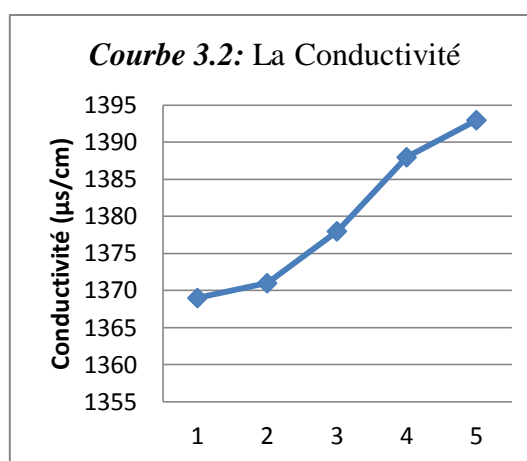
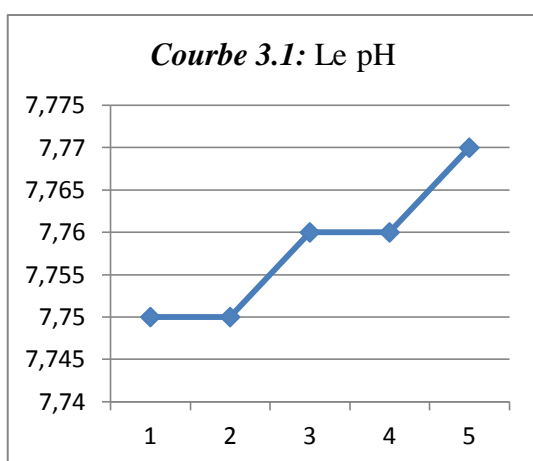


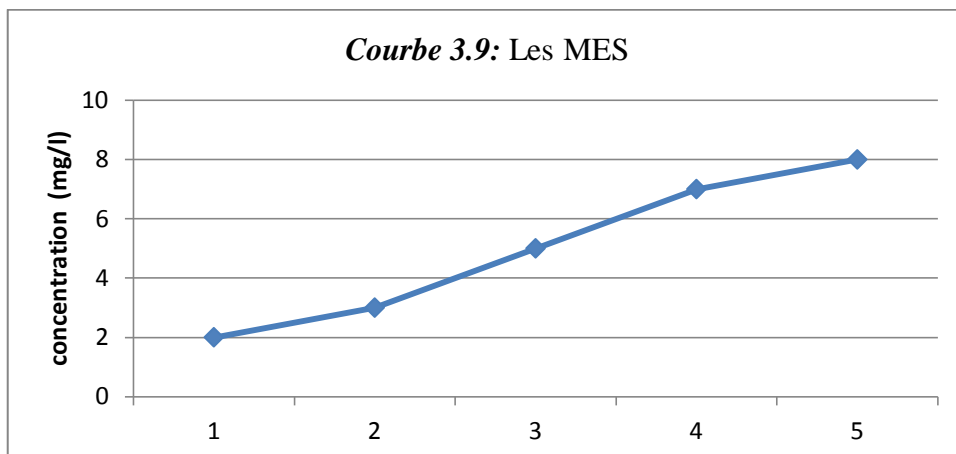
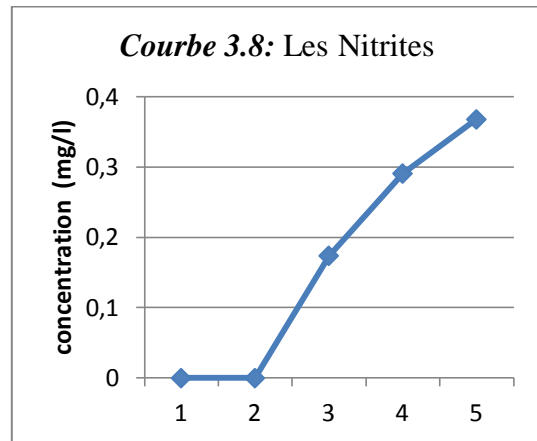
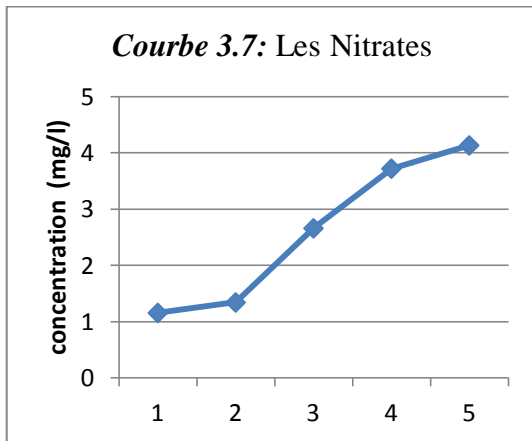
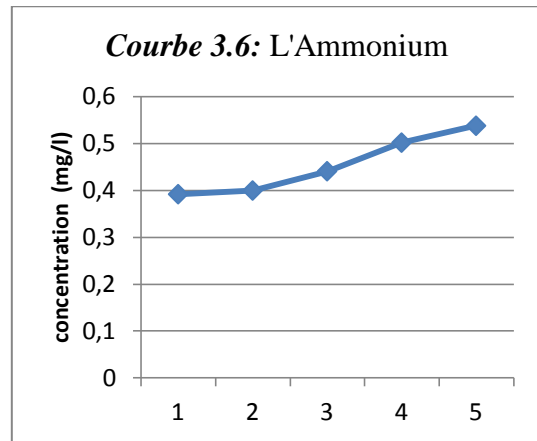
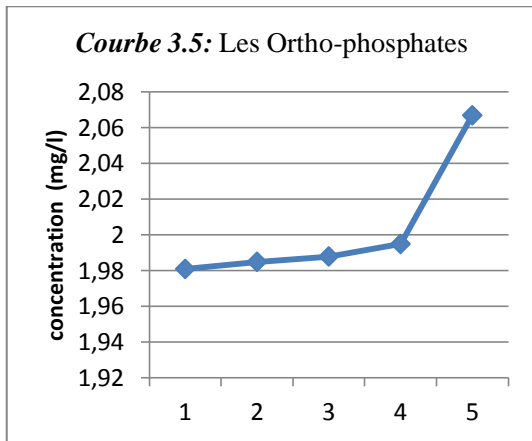
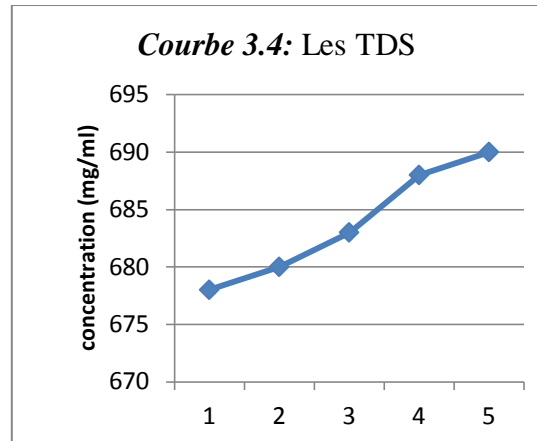
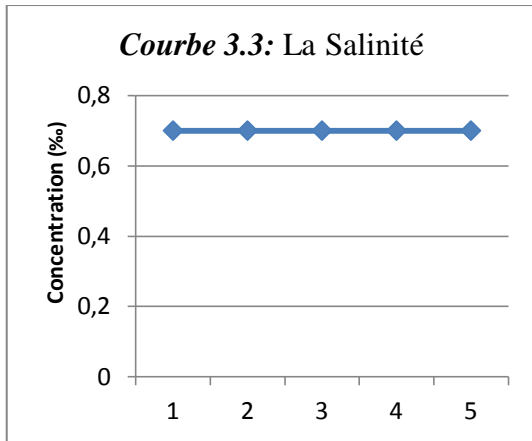
**Fig. 3.1** : La structure du bassin de chloration et les points du découpage.

Les analyses des cinq prélèvements du découpage ; réalisé le samedi 04 Juin 2011 ; ont dévoilés les valeurs des paramètres de pollutions suivant :

**Tab. 3.10** : Les résultats du découpage du bassin de chloration réalisé le samedi 04 Juin 2011.

Paramètres mesurés	1	2	3	4	5
pH	7,75	7,75	7,76	7,76	7,77
Conductivité	1369	1371	1378	1388	1393
Salinité	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
TDS	678	680	683	688	690
Phosphates	1,981	1,985	1,988	1,995	2,067
Ammonium	0,392	0,3998	0,441	0,502	0,538
Nitrates	1,159	1,345	2,663	3,724	4,137
Nitrites	0	0	0,174	0,291	0,368
MES	2	3	5	7	8





### Partie II : Résultats et Discussion Physico-chimiques

Sachant que le travail est exclusivement titré pour une étude microbiologique de la STEP mais ceci n'était pas envisageable sans avoir jeté un coup d'œil sur la qualité physico-chimique des eaux pour deux importantes et essentielles raisons :

- Voir si la nature physico-chimique des eaux représente un écosystème aquatique convenable pour la vie d'une biocénose microbienne épuratrice, donc les analyses des paramètres physico chimiques sont de ce fait capitales pour tous le processus d'épuration, on c'est donc engager pour une telle analyse propre à chaque ouvrage de façon à veiller tout changement éventuel de la qualité de l'eau durant la chaîne d'épuration d'une étape à l'autre.

- Comme les microorganismes étudiés sont sensés épurer l'eau de la charge polluante qu'elle apporte avec elle en amont, c'était donc une immense méprise de ne pas contrôler la qualité de cette même goutte d'eau en aval quand elle quitte la STEP après avoir débarrassée de son fardeau de pollution.

Les onze paramètres physico-chimiques étaient dosés/mesurés pour tous les échantillons d'une série de prélèvement.

Les concentrations des eaux usées varient fortement de ville en ville en fonction du type d'activité et de l'état du réseau d'assainissement d'une part, et au cours des saisons, en fonction de la pluviométrie d'autre part (**Mustin, 1987 ; Beaudoin, 2002 ; Atteia, 2005 ; Coulomb, 2011**).

#### 2.1. La température

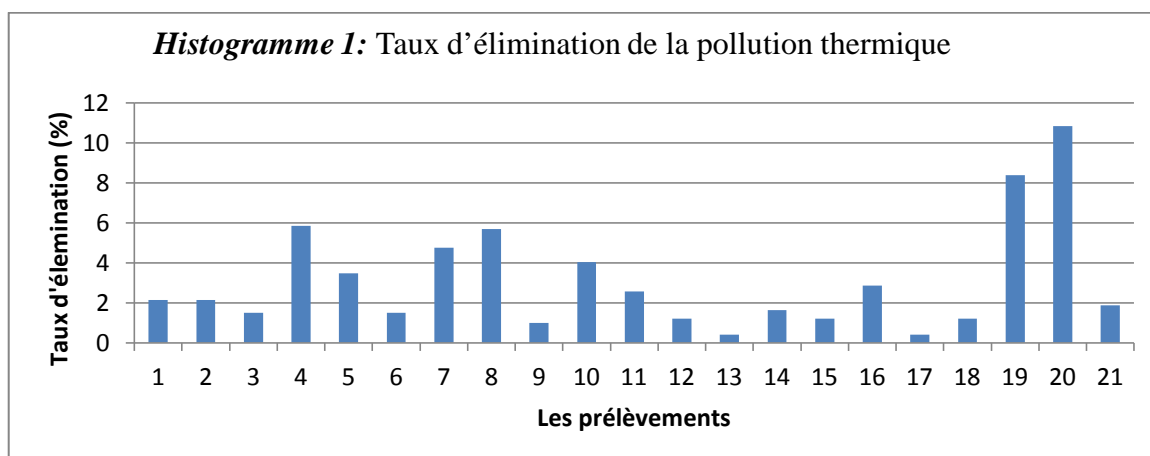
La chaleur peut être une source de pollution de l'eau. Quand la température de l'eau monte, le montant d'oxygène dissous baisse (**Daily, 2006**).

La pollution thermique peut être naturelle, dans le cas des sources chaudes ou des étangs peu profonds pendant l'été, ou faite par les humains, par la décharge de l'eau qui a été utilisée pour refroidir les centrales électriques ou autre équipement industriel (**Atteia, 2005**).

Les poissons et les plantes requièrent des certaines températures et niveaux d'oxygène pour vivre, alors la pollution thermique souvent réduit la diversité de la vie aquatique (**Gaujous, 1995 ; Donatienne et al., 1998 ; Atteia, 2005**).

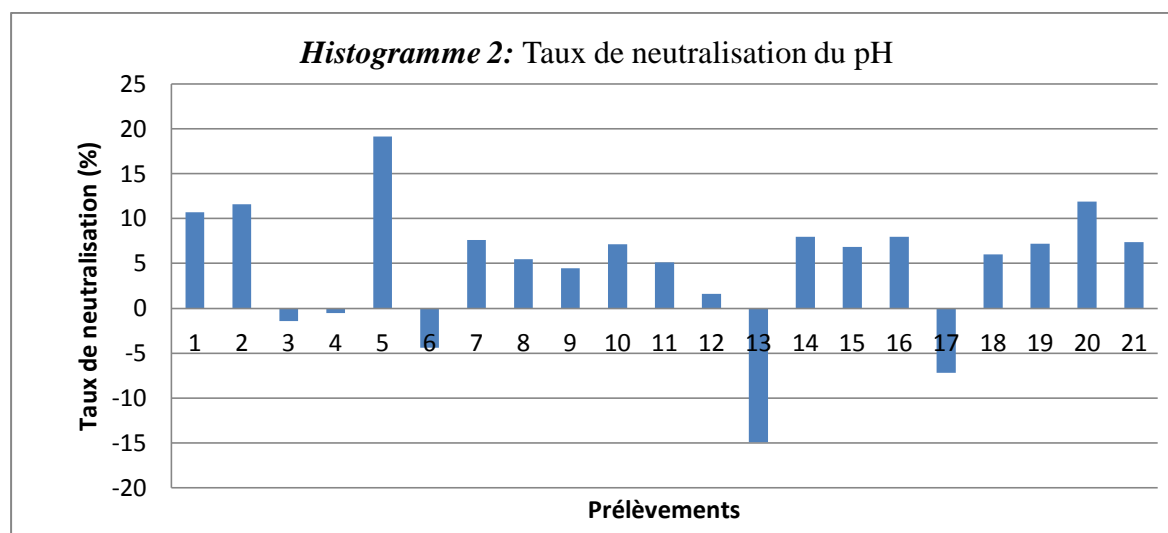
On constate que la plus grande température était celle des deux mois juillet et août entre [24.63 - 27.40°C] tandis que les deux mois septembre et octobre ont présenté les températures les plus modestes qui s'talent entre [14.40 - 15.70°C].

L'élimination de pollution thermique la plus frappante est celle daté du 04/10/2011 de 10.84%.



### 2.2. Le pH

Pour le pH on remarque que le processus d'épuration tend toujours vers la neutralisation de l'eau épurée depuis l'entrée jusqu'à la sortie la raison pour laquelle les résultats ont donné des valeurs d'élimination positives là où le pH diminue (la plus grande valeur d'une diminution du pH était de 19.16), les valeurs négatives qui représentent donc une élévation du pH (-14,89 poursuivie d'une élimination de la moitié de cette dernière : -7,20).



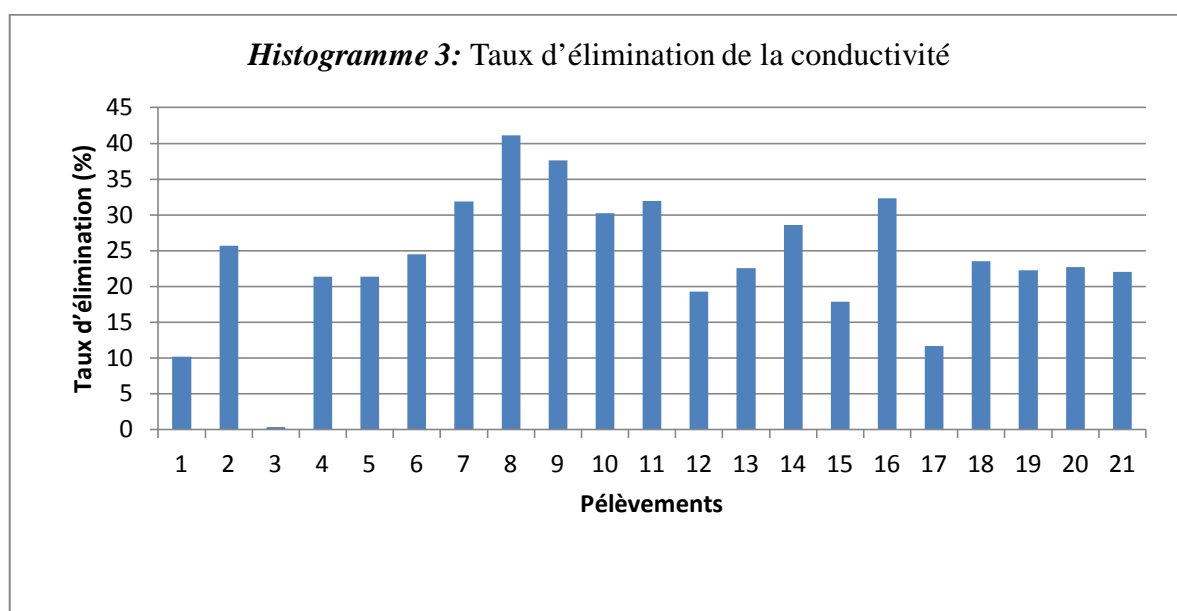
### 2.3. La conductivité

La conductivité est le paramètre qui indique la quantité des ions et électrolytes qui assurent le passage du courant entre une anode et une cathode métalliques de  $1\text{cm}^2$  de surface séparées l'une de l'autre de 1 cm, elle est l'inverse de la résistivité électrique.

Donc toute élimination est une épuration d'eau de ces composites polluants tels les : KCl, NaCl, MgCl, MgCl<sub>2</sub>, NaSO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub>. (**Rodier *et al.*, 2009**).

D'après le diagramme on remarque que l'élimination la plus flagrante 41.08 % est celle des eaux échantillonnées le 29/06/2011 durant la saison estivale.

La valeur la plus modeste est de 0.297 % enregistré le 14/05/2011 pendant le printemps.

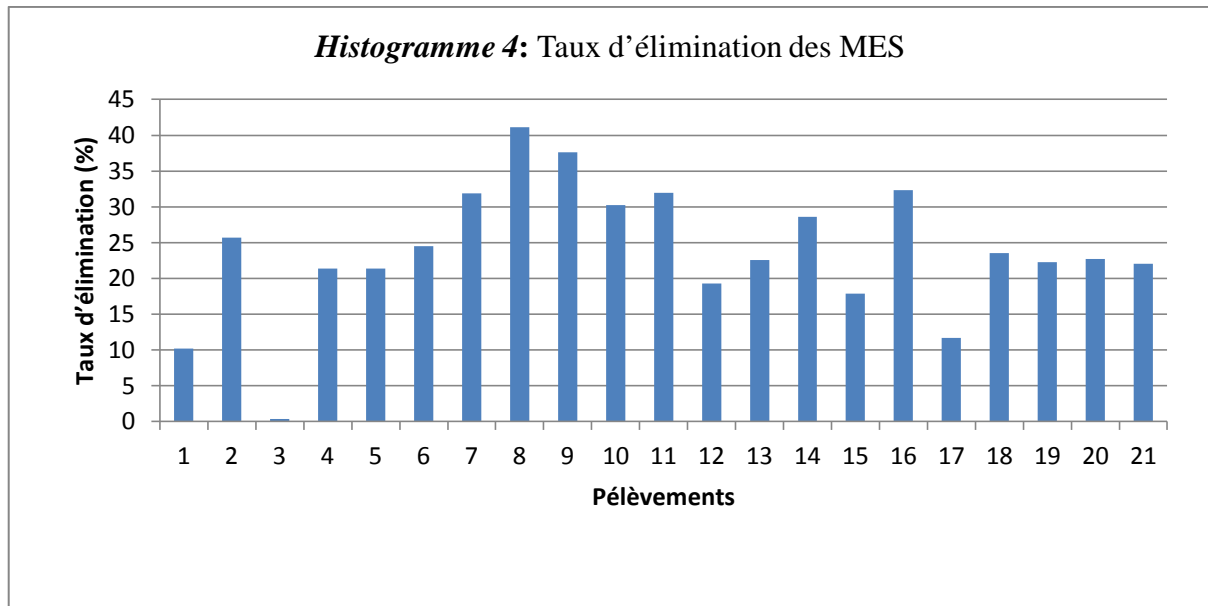


### 2.4. Les MES

Les matières en suspension se composent de fines particules insolubles. Leur provenance est variée : érosion des sols, débris organiques, rejets urbains ou industriels (**Mustin, 1987 ; Gaujous, 1995 ; Lafont & Durbec ; 2009**).

Leur présence excessive peut augmenter la turbidité du milieu, réduit la production photosynthétique, génère des carences en oxygène, ou encore avoir des effets mécaniques sur les poissons par colmatage des branchies car on sait bien que la destinée finale de cette eau est le barrage de Timgad connue par ces poissons d'eau douce (**Grosclaude, 1999 ; Tarmou, 2007**).

L'élimination des MES dans la STEP de Timgad est très bonne et ne diminue jamais au-dessous de 90% avec une meilleure élimination de 99.64% marquée en plein été.



### 2.5. L'oxygène

Les résultats de la concentration d'oxygène sont les seuls qui n'expriment pas un taux d'élimination mais seulement les valeurs obtenus *insitu* sur l'oxymètre du bassin d'aération là où de l'oxygène est injecté pour la stimulation des bactéries aérobies qui présentent la flore colossale d'épuration de la matière organique.

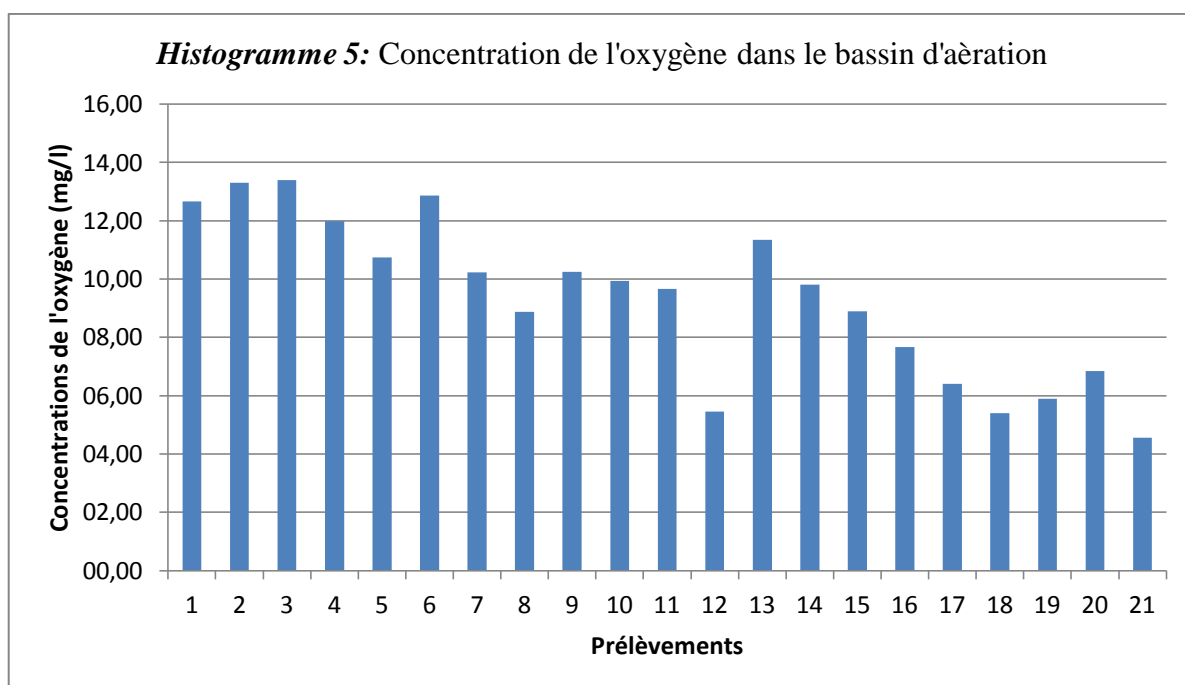
La mesure de l'oxygène est d'un grand intérêt dans notre étude car les quantités d'oxygène a injecté dans le milieu ne doivent pas être en dehors de l'intervalle [2-4] mg/l (**Gaujous, 1995 ; ONA, 2007**).

Les résultats obtenus pendant le stage d'étude sont toutes hors les limites des valeurs commandées ce qui a déséquilibré le processus d'épuration de l'eau dans les conditions d'anaérobiose où une dénitrification dite tardive ou encore sauvage est toujours constatée dans le clarificateur secondaire.

Les valeurs d'oxygène mesurait s'étaient sur un intervalle de [4.56-13.40], les moyennes issues de tous les mois n'obéissent pas elles aussi à la norme [5,7 - 12.83].

Les prélèvements des deux mois septembre et octobre ont été faites dans une période de pilotage où les responsables de la STEP essayent de régler le problème de cet excès en concentration d'oxygène dissous faute de compresseur qui est destiné pour la mise en marche des deux filières de la STEP.

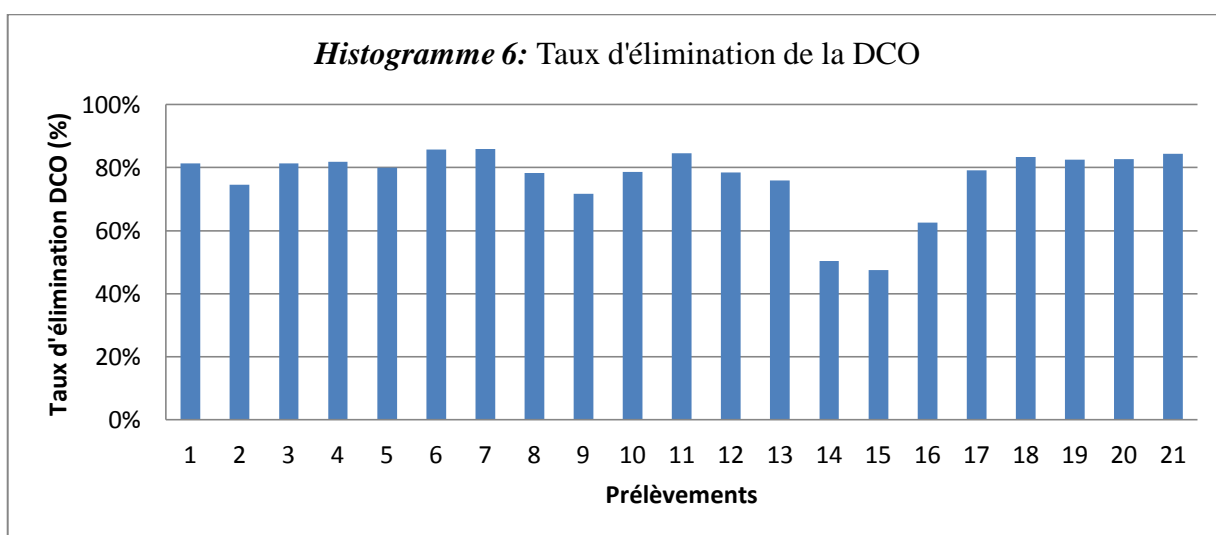
C'est bien dommage que l'étude n'ait pas pu être suivie après la résolution du problème d'excès d'oxygène.



### 2.6. La DCO

La DCO représente tout ce qui est susceptible de demander de l'oxygène, en particulier les sels minéraux oxydables (sulfures, sels de métaux,...) et la majeure partie des composés organiques, biodégradables ou non. Elle nous renseigne de cette manière sur la charge totale des eaux (C.E.A.E., 2012).

Les taux d'éliminations de la DCO dans la STEP de Timgad sont toujours supérieurs à 47% et tournent aux environs des 70-80% pour la plus part des prélèvements. La valeur maximale d'élimination était celle du 10/07/2011 avec un taux qui atteint 85.80%.



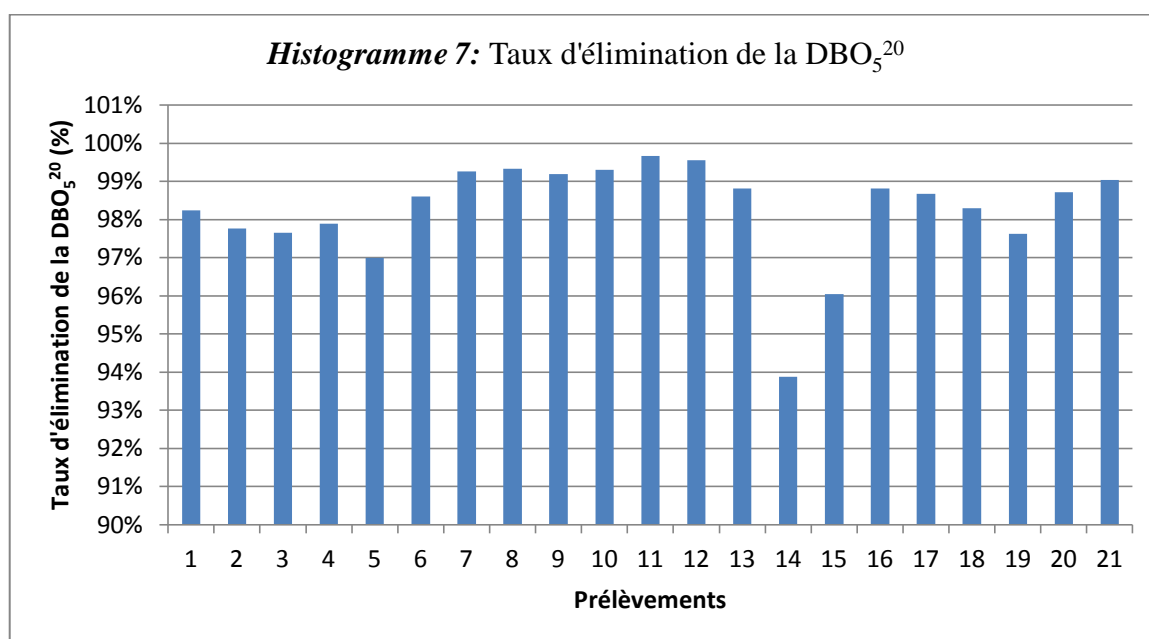
### 2.7. La DBO<sub>5</sub>

La DBO<sub>5</sub> est la quantité d'oxygène nécessaire à la destruction ou à la dégradation des matières organiques d'une eau par les micro-organismes du milieu.

Ce paramètre est abordable pour trois raisons :

- Soit pour quantifier la charge polluante organique de l'eau,
- Soit pour évaluer l'impact d'un rejet sur le milieu naturel (toute matière organique biodégradable rejetée va entraîner une consommation d'oxygène au cours des procédés d'autoépuration),
- Soit pour évaluer l'intensité du traitement nécessaire à l'épuration d'un rejet par un procédé biologique.

Pour notre étude on constate que les taux d'élimination de DBO<sub>5</sub> étaient toutes supérieures à 93% avec une fréquence de six apparitions pour chacun des pourcentages 99% et 98% ; de cinq pour 97% ; de deux pour 96% et en fin une seule fois pour chacun des pourcentages 95% et 93%.



### 2.8. L'ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

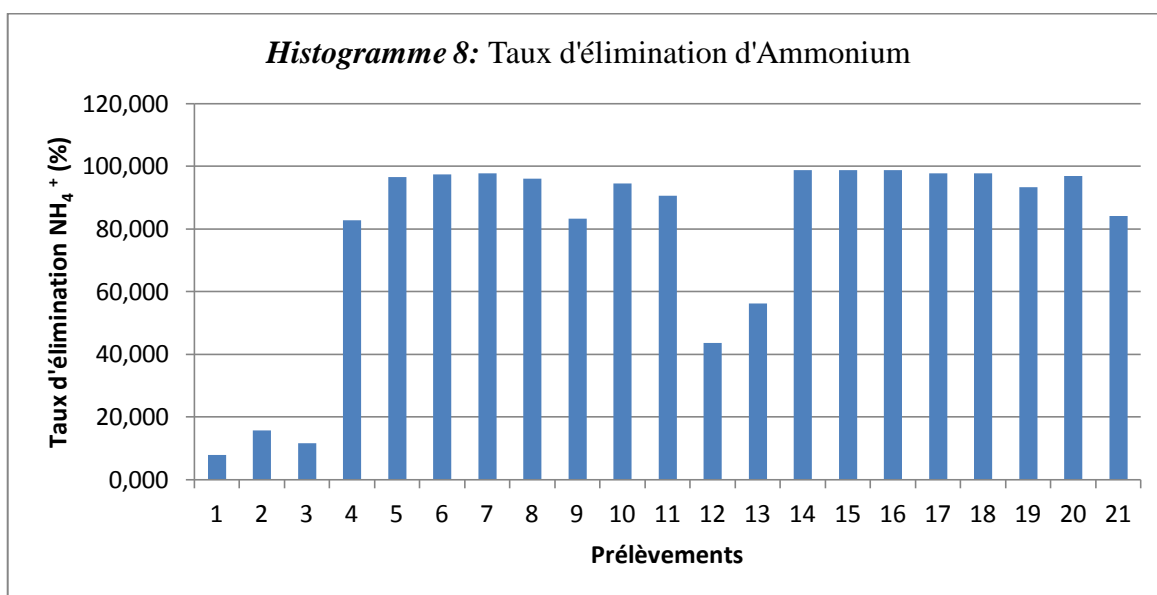
L'ammonium ou l'azote ammoniacal est l'un des paramètres de pollution les plus importants car il peut être d'origine végétal, animal, humain (élimination d'urée), industriel ou agricole.

Les résultats ci-dessous représentent les taux d'élimination d'ammonium depuis l'entrée de l'eau à la STEP par rapport aux concentrations avec lesquelles l'eau quitte la STEP à la sortie.

Le diagramme révèle que les trois premiers résultats sont très différents du reste des valeurs obtenues au bout de la période d'étude ; ceci est due au mauvais choix de la méthode d'analyse la plus convenable pour des eaux polluées car la méthode définie dans ces trois prélèvements était celle adoptée pour des eaux potables dont les concentrations sont beaucoup plus faibles.

On constate que les taux d'élimination de  $\text{NH}_4$  étaient toutes supérieures à 43% (à l'exception des trois premiers prélèvements) avec une fréquence de treize apparitions pour des pourcentages supérieurs à 90%.

La valeur maximale d'élimination était celle du 16/08/2011 avec un taux qui atteint 98.87%.



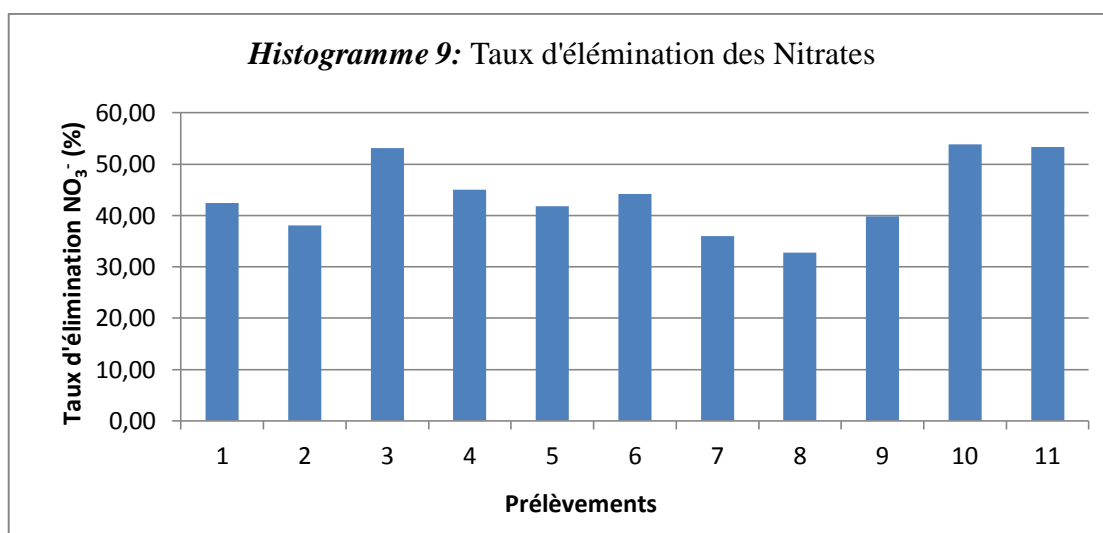
### 2.9. Les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )

Ce produit normalement issu de la nitrification de l' $\text{NH}_4$  et puis transformer en  $\text{NO}_2^-$  et finalement en azote gazeux pour que la dépollution soit complète (Taha, 2002 ; Tawan *et al.*, 2005).

L'analyse du nitrate était réalisée que deux fois par mois car le protocole est long.

Les dosages effectués pour cet élément dans les eaux traitées dans la STEP de Timgad montrent des quantités plus au moins importantes dans les eaux traitées impliquant que la dénitrification n'est pas achevée dans le bassin d'anoxie.

Malgré que l'existence du nitrate à la fin du processus épuratoire soit déjà un mauvais signe pour la dénitrification ; restant que l'effet d'avoir des taux d'éliminations supérieurs à 30% et qui attins un seuil de 53,82% désigne une élimination considérable des nitrates.

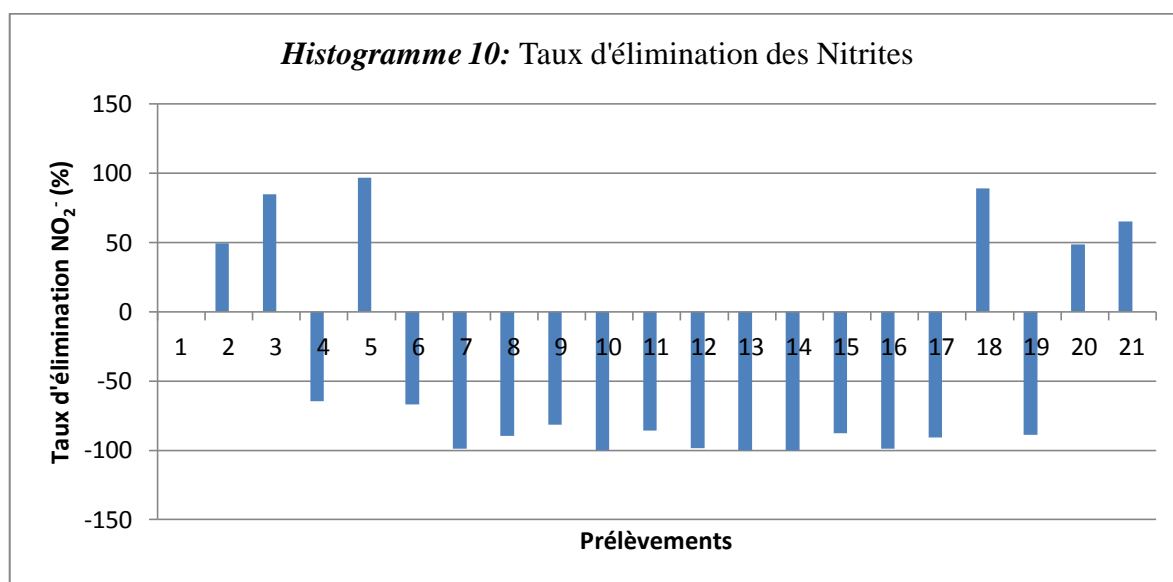


### 2.10. Les nitrites (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)

Le nitrite un élément extrêmement toxique pour la faune aquatique au de là de 50mg/l.

Le diagramme montre des valeurs positives et d'autres négatives ; celles positives montrent une élimination des nitrites par contre celles négatives montrent la propagation des nitrites au cours de l'épuration où la concentration en nitrites avec la quelle l'eau quitte la STEP est beaucoup plus importante que celle avec la quelle elle est arrivée car les nitrites apparaissant durant le processus à cause d'une dénitrification non inachevées faute de sur oxygénation. (**Pichinoty et al., 1975 ; Cabon, 1993 ; Mary, 1997 ; Taha, 2002**)

Dans les vingt-et-un prélèvements analysés seuls six prélèvements montrent une élimination des nitrites tandis que les autres montrent plutôt une production de cet élément qui ne figure pas dans les eaux entrées.



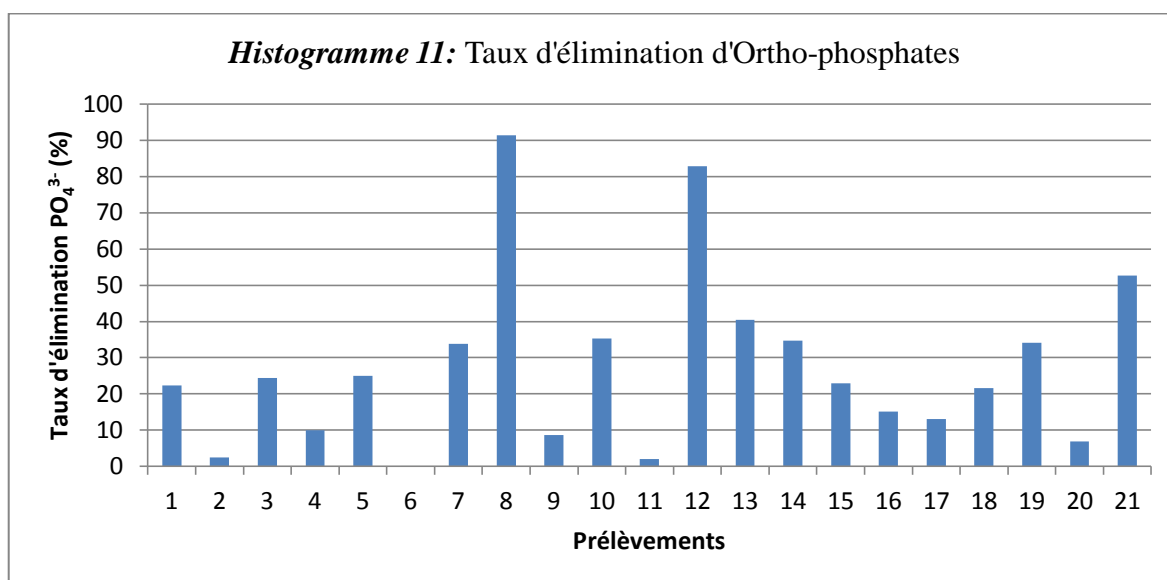
### 2.11. Les Ortho-phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ )

Le phosphate est un facteur limitant d'une grande importance dans les écosystèmes aquatiques dont il conditionne la productivité de biomasse (O'Neill *et al.*, 2011 ; Slansky, 2012).

L'élimination des ortho-phosphates par processus de boues activées dans la STEP de Timgad a donné des taux d'abattements changeants d'un prélèvement à l'autre.

D'après le diagramme on remarque que dans les vingt-et-un prélèvements analysés seulement deux représentants une bonne élimination d'ortho-phosphates, onze représentants des éliminations qui s'étendent entre 20% et 40%, tandis que les huit restants ne représentent que des taux inférieurs à 16%.

L'élimination des ortho-phosphates est donc moins bonne que les autres paramètres de pollution, cela est dû à la difficulté de la biodégradation de cet élément qui nécessite un traitement de finalisation par des polymères (Adrian *et al.*, 2005 ; Slansky *et al.*, 2012).



### Conclusion

Ces travaux avaient pour but de connaître les microorganismes existant dans la STEP de Timgad et d'étudier la qualité physico-chimique des eaux en amont et en aval.

Cette étude se récapitule sur le processus épuratoire de la STEP de Timgad - chaque station est particulière par ces eaux brutes et boues activées- les résultats obtenus nous permettent d'affirmer les points suivants :

- Les populations bactériennes mises en évidence sont beaucoup moins que celle existantes réellement dans les différents ouvrages et encore plus au sein de la boue activée.
- Parmi dix-neuf souches isolées dix sont toujours présentes durant tout l'intervalle d'étude.
- En classant les souches identifiées une classification phylogénétique selon *Taxonomic outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, dans la seconde édition mise au point le 05 mai 2004 (George et al., 2004) : les isolats identifiés appartiennent exclusivement à l'embranchement des *Proteobacteria* avec une dominance des  $\gamma$ -*Proteobacteria* (89,47%) alors que  $\alpha$ -*Proteobacteria* et  $\beta$ -*Proteobacteria* sont à égalité (5,26%).
- Les trois souches *Moraxella lacunata*, *Proteus vulgaris* et *Pseudomonas fluorescens* ne s'absentent que dans la deuxième série de prélèvements et affectent considérablement la biodiversité bactérienne.
- Les incultivables ne sont pas prises en considération dans notre étude car les techniques permettant leurs existences sont inaccessibles.
- La sensibilité des souches isolées a été testée vis-à-vis 18 antibiotiques et treize profils ont été définies. 30 % de ces souches sont montrées sauvages. Cette proportion est inquiétante vu que les eaux rejetées rejoignent l'Oued Soltez utilisé pour l'irrigation et collecté finalement par le barrage de Timgad. Cet inconvénient impose l'installation d'une étape de chloration.
- Les 70% restant se divisent entre 12 profils bactériens et des souches dont le phénotype n'a pas été définie.
- Les germes pénicillinasés parviennent toujours dans l'intervalle fermé [11,30 - 20%].
- La flore identifiée aux analyses microscopiques des boues englobe des protozoaires et métazoaires qui sont pour la quasi-totalité des indicateurs de fonctionnement correcte

du processus épuratoire, une très bonne qualité d'effluents, une aération permanente et des boues de faible charge à âge élevés en voie de stabilisation.

- Les *Vorticelles* sont les plus rencontrés. Ces espèces sont relativement fragiles aux substances toxiques et à un manque d'oxygénation. On les observe alors sur des installations où l'oxygène est présent en permanence.
- Les trois espèces d'*Aspidisca* - *A. costata*, *A. sulcata*, *A. cicada* - sont fréquemment rencontrés mais leur présence ne donne aucune indication sur la qualité du traitement.
- *Zoothamnium pygmaeum* est un autre cilié de la même famille des *Vorticelles* mais moins rencontré ; indicateur de faible charge, bonne capacité épuratrices de la pollution de carbone, et d'une aération permanente. La longueur du pédoncule est corrélative au degré de traitement: plus le pédoncule est long, meilleur est le traitement.
- En ce qui concerne les analyses physico-chimiques, elles reflètent un excellent traitement des matières en suspensions (MES), l'élimination ne diminue jamais au dessous de 90%.
- Une bonne élimination de matière organique quelle soit azotée ou ortho-phosphatée est constaté sauf pour les nitrates qui n'aboutissent pas la dernière réaction de leur élimination faute d'une sur oxygénation.
- Pour le pH on remarque que le processus d'épuration tend toujours vers la neutralisation de l'eau épurée depuis l'entrée jusqu'à la sortie.
- L'abattement de la DCO est toujours supérieur à 47%, celui de la DBO<sub>5</sub> est régulièrement supérieur à 93%.
- Une dégradation de la qualité physico-chimique des eaux épurées au niveau du dernier ouvrage est confirmée après un découpage de ce dernier.

### Perspectives, directives et instructions

- La STEP doit être maintenue sans interruption avec un fonctionnement satisfaisant et efficace tant que l'effluent rejoint un milieu naturel.
- Comme au Chypre l'eau usée domestique doit être employées pour l'arrosage des champs du football, parcs, jardins d'hôtel, forêts aussi bien que l'irrigation des récoltes d'arbres (citron, olives, vignes, fourrage et paysage) (**Fatta et al., 2005**). L'utilisation des eaux épurées pour d'autres récoltes a été bien mise en évidence comme contre indiqué d'après les travaux de **Ait Hamou** et ses deux collègues sur l'impact microbiologique de l'irrigation du poivron et du maïs fourrager avec des eaux brutes et traitées de la STEP de Baraki (**Ait Hamou et al., 2000**).
- Les méthodes d'irrigation permises et les conditions de l'application diffèrent entre les différentes plantations comme suit :
  - \* Pour les fourrages verts, on recommande d'arrêter l'irrigation au moins une semaine avant la moisson.
  - \* Pour les pelouses et les jardins l'arrosage devrait de préférence être pratiqué pendant la nuit et quand les concitoyens ne sont pas autour des secteurs d'agrément.
  - \* Aucun animal producteur de lait n'est admis sur des pâturages irrigués avec les eaux épurées.
  - \* Pour les arbres avec des fruits mangés après épluchage : Irrigation par goutte à goutte.
- Tous les sorties, robinets et valves dans le système d'irrigation avec des eaux épurées doivent être fixés pour empêcher leur utilisation par les personnes non autorisées.
- Toutes les sorties doivent être colorées et clairement marquées pour avertir le public que cette eau n'est pas potable.
- Selon **Ahmed Kettab** dans certaines régions, l'exploitation des ressources d'eau douce naturelles renouvelables ont atteint ou excédé 100%, ce qui impose l'exploitation des réserves d'eaux non renouvelables (**Kettab, 2001**). Cette réalité démontre que l'approvisionnement en eau sera sévèrement touché pendant les années à venir et l'utilisation des ressources non conventionnelles (réutilisation d'eaux usées) sera ainsi un facteur primordial.

- Le traitement des eaux usées domestiques en réacteurs anaérobies, après traitement dans les systèmes normaux et la réutilisation agricole doivent avérés dans la pratique car relativement simples et permettent la récupération des ressources en eau.
- L'eau usée peut être réutilisée pour la recharge des barrages et des nappes souterraines mais cela on contrôle la qualité de ces eaux.
- Les conditions de qualité et de traitement pour l'eau usée réutilisée deviennent de plus en plus rigoureuses pour éviter le contact direct et l'ingestion par l'homme.
- Les éléments polluants qui doivent être enlevées dépendent de l'utilisation finale de l'eau traitée. Par exemple, l'élimination des phosphates ou des nitrates n'est pas nécessaire si l'utilisation prévue est l'irrigation de paysage.
- Économiser de l'eau; moins vous utilisez de l'eau moins plus il y aura d'évacuations par les gouttières et les drains ce qui réduira le risque de transporter des polluants.
- Dégager votre gouttière de tout détrit.
- Utiliser des pesticides avec modération; habituellement les gens ont tendance à utiliser de 10 à 50 fois plus de pesticides pour leurs pelouses et jardins que ce qu'il est nécessaire pour la santé des plantes (E.C., 2004 ; 2006 ; C.S., 2007).
- Garder votre véhicule en bonne état. Si vous avez une fuite d'huile réparez-la et si vous changez l'huile débarrassez-vous d'elle correctement.
- Utiliser des produits nettoyants naturels comme du bicarbonate de soude, du vinaigre ou du borax.
- Utiliser du détergent qui contient le moins de phosphate possible; les stations d'épurations peuvent enlever seulement 30% des phosphates dans les déchets (Mamoru *et al.*, 1999 ; Luz *et al.*, 2002 ; C.S., 2007 ; O'Neill *et al.*, 2011).

### Références bibliographiques

- Abdoulaye D., Christian L., Bernard A. et Codou M.-D., **1998**, Elimination des fluorures par la dialyse ionique croisée, *European Polymer Journal Vol 34*, pp 67–75.
- Achoura A. & Belhamra M., **2010**, Aperçu sur la faune arthropodologique des palmeraies, *Courrier du Savoir – N°10, Université Mohamed Khider -Biskra, Algérie, Avril 2010*, pp.93-101.
- Adrian O., Teresa V. M., Huabing Lu, Zhiguo Y. and Jurg K., **2005**, The effect of pH on the competition between polyphosphate accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms, *Water Research: 39. 0043-1354 - Elsevier Ltd.. DOI:10.1016/J.WATRES.2005.06.031*, pp 3727–3737.
- Ait Hamou R., Roulahbal O. & Haddadi F., **2000**, Impact microbiologique des eaux usées traitées sur le poivron et le maïs fourrager, *Recherche Agronomique*, pp 77-85.
- Aminot A., Chaussepied M., **1983**, Manuel des analyses chimiques en milieu marin. *NEXO*, 395p.
- Anzai K., Park H, Wakabayashi J.Y., Oyaizu H., **2000**, "Phylogenetic affiliation of the *Pseudomonads* based on 16S rRNA sequence", *Int J Syst Evol Microbiol (2000, Jul)*. **50 (4): DOI:10.1099/00207713-50-4-1563. PMID 10939664, pp 1563–89.**
- Arrouays D., Jolivet Cl., Boulonne L., Bodineau G., Ratié C., Saby N. & Grolleau E., **2003**, Le Réseau de Mesures de la Qualité des Sols (RMQS) de France, *INRA, Unité Infosol, Avenue de la Pomme de Pin - BP 20619 – ARDON - 45166 OLIVET Cedex – France. Étude et Gestion des Sols, Volume 10, 4*, pp 241-250.
- Atteia O., **2005**, Chimie et pollutions des eaux souterraines, *Lavoisier - Tec & Doc*, 400 p.
- Aumond M. & Joannis C., **2006**, Mesure en continu de la turbidité sur un réseau séparatif d'eaux usées : mise en œuvre et premiers résultats. Continuous monitoring of turbidity of wastewater in a separate sanitary sewer: Practical set-up and first results, *La houille blanche/N° 4-2006*, pp 121-128.
- Badia-Gondard F., **2003**, L'assainissement des eaux usées. *Edition techni.cités*, ,231p.
- Barriuso E., Clavet R., Schiavon M. & Soulas G., **1996**, Les pesticides et les polluants organiques (transformations et dissipation), *Numéro spécial de « le sol un patrimoine menacé »*, pp 279-300.
- Baumann P. & Schubert R.H.W. , **1984**, Family II. *Vibrionaceae*, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. **1**, *VERON. In N.R. KRIEG and J.G. HOLT (eds.) The Williams & Wilkins Co., Baltimore*, pp. 516-517.
- Beaudoin N., Coquet Y. & Mary B., **2002**, Estimation des pertes de nitrates et de pesticides en zone de grande culture. Étude à l'échelle du bassin hydrologique de Bruyères-et Montberault, *Compte rendu final ADEME n° 9701001*, 68 p.
- Beaudry J.P., **1984**, Traitement des eaux, Edition le Griffon d'Aigle Inc, 231p.
- Bechac J.P., Boutin P., Mercier B. & Nuer P., **1987**, Traitement des eaux usées. , *Edition Eyrolles*, 281p.
- Bennett J.W. & Bentley R., **2000**, Seeing red: the story of prodigiosin, *Adv. Appl. Microbiol.* **47**, pp 1-32.
- Berne F. & Cordonier J., **1991**, Traitement des eaux. , Edition Techno, 306p.
- Bing-Jie Ni & Han-Qing Yu, **2008**, Simulation of heterotrophic storage and growth processes in activated sludge under aerobic conditions, *Chemical Engineering Journal* **140**, pp 101–109.
- Blanchon D. & Aurélie B., **2009**, Atlas mondial de l'eau, *Editeur : Autrement*, 80 p.
- Bliiefert C. & Perraud R., **2001**, Chimie de l'environnement : Air, Eau, Sols, Déchets, *Edition de boeck*, 477p.
- Bolet L. & Fønnesbech J.K., **2009**, Lutte contre le verglas par buses d'épandage de saumure sur les routes. Mise en application de technologies d'épandage de saumure au Danemark, *Université d'Aalborg, Département de Développement et Planification, Aalborg, Danemark. Service d'Entretien et d'Opération routiers de l'ancien département danois de la Fionie et la municipalité de la Fionie du Nord, Danemark*, pp 1-14.

- Boman P. & Romain S., **2007**, Dictionnaire de la pluie, *Éditeur : Seuil, ISBN: 2020913631, 9782020913638*, 404p.
- Bommelaer O. & Devaux J., **2011**, Coûts des principales pollutions agricoles de l'eau. Service de l'économie, de l'évaluation et de l'intégration du développement durable, *Commissariat Général au Développement Durable N° 52. Collection « Études et Documents » du Service de l'économie, de L'Évaluation et de l'Intégration du Développement Durable (SEEIDD) du Commissariat Général au Développement Durable (CGDD)*, 26 p.
- Bonnin C. & Laplanche A., **1991**, Les sources de nuisances olfactives dans les stations de traitements des eaux résiduaires et leur traitement par lavage à l'eau chlorée en milieu basique, *Travaux Universitaires - Thèse nouveau doctorat Note(s) : (bibl.: 81 réf.) N° : 91 REN1 0152*, 184 p.
- Bontoux J., **1993**, Introduction à l'étude des eaux douces : eaux naturelles, eaux usées, eaux de boisson. *,Edition Technique et Documentation Lavoisier*, 166p
- Bousquet G., Ouvrard J., Rigal S. & Vilagines R., **1984**, Water-tasting: signifiante, methodology, reliability, *Service de Contrôle des Eaux de la Ville de Paris 144, avenue Paul Vaillant Couturier, 75014 Paris. Association pharmaceutique française pour l'hydrologie. Journal français d'hydrologie. Vol. 15, N°3*, pp 223-236.
- Boussaid F., G., Morvan J. & Collin J.J., **1988**, Denitrification in-situ of ground waters with solid carbon matter, *Environmental Technology Letters Vol. 9, Issue 8*, pp 803-816
- Brenner D.J., O'hara C.M., Grimont P.A.D., Janda J.M., Falsen E., Aldova E., Ageron E., Schindler J., Abbott S.L. & Steigerwalt A.G., **1999**, Biochemical identification of *Citrobacter* species defined by DNA hybridization and description of *Citrobacter gillenii* sp. nov. (Formerly *Citrobacter* genomospecies 10) and *Citrobacter murliniae* sp. nov. (Formerly *Citrobacter* genomospecies 11), *J. Clin. Microbiol.*, (37) , pp 2619-2624.
- Brion D., **1980**, Etude par spectroscopie de photoélectrons de la dégradation superficielle de Fer, cuivre, Zinc et Plomb dans l'air et dans l'eau, *Applications of Surface Science. Vol. 5, Issue 2*, pp 133-152.
- Brisson N., Mary B., Ripoche D., Jeuffroy M., Ruget F., Nicoulaud B., Gate P., Devienne-Barret F., Antonioletti R., Durr C., Richard G., Beaudoin N., Recous S., Tayot X., Plenet D., Cellier P., Mchet J., Meynard J. & Delécolle R., **1998**, STICS: a generic model for the simulation of crops and their water and nitrogen balances, *1- theory and parameterization applied to wheat and corn. Agronomie 18*, pp 311-346.
- Britt-Marie Wileén, Motoharu Onukia, Malte Hermansson, Doug Lumley, Takashi Mino, **2008**, Microbial community structure in activated sludge floc analysed by fluorescence in situ hybridization and its relation to floc stability, *Water research 42, 0043-1354/\$ - Elsevier Ltd.. DOI:10.1016/j.watres.2007.12.013. Available at www.sciencedirect.com. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/watres*, pp 2300 –2308.
- Bruchet A., Cagnet L. & Mallevalle J., **2003**, Combinaison d'une cellule d'extraction liquide-liquide en continu et d'un couplage CG-SM en vue de l'analyse des pesticides dans les eaux, *Water Research Vol. 18, Issue 11*, pp 1401-1409
- C.E.A.E. Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec, **2012**, Modes de conservation pour l'échantillonnage de rejets liquides., *DR-09-04 Edition 2004-04-28*, 10 p.
- C.E.A.E. Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec, **2012**, Détermination de la demande biochimique en oxygène: méthode électrométrique, *Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec. MA. 315-DBO 1.1, Rév. 2, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec*, 11 p.
- C.S., **2007**, City of Saskatoon. Wastewater Treatment Process, *http://www.saskatoon.ca/org/water\_treatment/wastewater\_treatment/ww\_process.asp*.
- Cabon F., **1993**, Modélisation du cycle de l'azote dans le Système sol-eau-plante au bassin hydrologique, *Thèse de doctorat, Université Paris VI*.

- Canler J.-P., Perret J.-M., Duchêne P., Cotteux É., **1999**, Aide au diagnostic des stations d'épuration par l'observation microscopique des boues activées, *Editions Quae*, 160 p.
- Chaib A., **2004**, Bio-épuration par lagunage naturel. *Bulletin du Centre de Développement des Énergies Renouvelables (CDER), N°5*, pp 21
- Champia T. D. & Larpen J.-P., **1994**, Biologie des eaux, *Édition Masson (Paris)*.
- Chapman G.H., **1945**, Journal of bacteriology, pp 50, 201-203
- Charbonneau P., **2005**, Sels de voirie : une utilisation nécessaire mais lourde de conséquences *,Le neutraliste canadien n°1 vol 130*,75-81
- Chippaux J.-P., Houssier S., Gross P., Bouvier C. & Brissaud F., **2002**, Étude de la pollution de l'eau souterraine de la ville de Niamey, Niger., *Manuscrit n°2322. "Santé publique". Bull Soc Pathol Exot, 94, 2*, pp 119-123
- Christian D., **2003**, La microfaune des boues activées. Etude d'une méthode d'observation et application au suivi d'un pilote en phase de démarrage (Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Laboratoire de Génie Chimique, Traitement et Epuration des Eaux), *Water Research Volume 14, Issue 9. Place Eugène Bataillon, 34060 Montpellier Cedex, France*, pp 1199-1207
- Clara Raven, Peden D., Wright H. D., **2005**, The bacteriological examination of water supplies, DOI: 10.1002/path.1700500210. Copyright 1940 The Pathological Society of Great Britain and Ireland.
- Cloppet H., Denoyel G.A. & Vincent P., **1977**, Le genre *Citrobacter*. Etat actuel de nos connaissances, *Revue Institut Pasteur Lyon, 10*, pp 1-23.
- Collin J., **2007**, L'eau : Le Miracle oublié, *Guy Trédaniel Editeur ISBN-10: 2857075693*, 239 p.
- Coquand M.H., **1962**, Géologie et paléontologie de la région sud de la province de Constantine, *Mémoires de la société d'émulation de la Provence. Tome II*, pp 5-366
- Corliss John O., **2005**, Why the World Needs Protists ! *Journal of Eukaryotic Microbiology ; Volume 51 Issue 1*, pp 8-22.
- Coulomb R., **2011**, Conseil Mondial De L'eau : De L'origine Jusqu'au Forum Mondial De La Haye, édition Johanet, 190 p.
- Croue J. P., **1999**, Intérêt du fractionnement et de l'extraction des matières organiques naturelles d'eaux de surface pour l'étude de leurs propriétés structurales et de leur pouvoir complexant vis-à-vis du cuivre, *Travaux Universitaires - Thèse nouveau doctorat. (bibl.: 155 ref.), N°: 99 POIT 2360*, 159 p.
- Curds C. R. & Cockborn A., **1968**, Studies on the growth and feeding of *Tetrahymena pyriformis* in axenic and monoxenic culture, *J. Gen. Microbiol. 54*, pp 343-358.
- Curds C. R. & Fey G. J., **1969**, The effect of protozoa on the fate of *Escherichia coli* in the activated-sludge process, *Water Research Pergamon Press. Vol. 3*, pp. 853-867.
- Curds C. R. and Vandyke J. M., **1966**, The feeding habits and growth rates of some fresh-water ciliates found in activated-sludge plants, *J. Appl. Ecol. 3*, pp 127-137.
- Curds C. R., Cockburn A. and Vandyke J. M., **1968**, An experimental study of the rôle of the ciliated protozoa in the activated-sludge process, *War. Pollut. Control 67*, ,312-329.
- Cyriaque D., Makoutode M., Ouendo E.-M., Fayomi B. & De Brouwer C., **2008**, La qualité de l'eau de puits dans la commune d'Abomey-Calavi au Bénin, *Environnement, Risques & Santé. Vol. 7, N° 4, Article original. DOI : 10.1684/ers.2008.0158*, pp 279-83
- D.A.P.E. Direction De l'Assainissement et de La Protection de l'Environnement, **2006**, Étude de réutilisation des eaux épurées à des fins agricoles ou autres sur tout le territoire national, *Mission 1 : Reconnaissance et collecte des données de base*, 120p.
- Daily T., **2006**, Canada Will Not Buy Pollution Rights., [www.terraily.com/reports/Canada\\_Will\\_Not\\_Buy\\_Pollution\\_Rights\\_999.html](http://www.terraily.com/reports/Canada_Will_Not_Buy_Pollution_Rights_999.html).

- Daisuke Inoue, Kazunari Sei, Satoshi Soda, Michihiko Ike and Masanori Fujita, **2005**, Potential of predominant activated sludge bacteria as recipients in conjugative plasmid transfer, *Journal of Bioscience and Bioengineering, The Society for Biotechnology, Japan, Vol. 100, No. 6, DOI: 10.1263/jbb.100.600.*, pp 600-605.
- David Blanchon & Aurélie Boissière, **2009**, ATLAS MONDIAL DE L'EAU, *Editeur : Autrement*, 80 p.
- De Lucas A., Rodriguez L., Villasenor J. & Fernández F.J., **2007**, Fermentation of agro-food wastewaters by activated sludge, *Water Research 41*, *Journal homepage: www.elsevier.com/locate/watres. 0043-1354 - see front matter & Elsevier Ltd. DOI:10.1016/J.Watres.2007.01.041*, pp 1635-1644.
- Delattre J. M., Oger C., **1992**, Le prélèvement d'eau pour analyse microbiologique. Guide pour l'échantillonnage des eaux, *Réseau national d'Essais, Document n° 23*.
- Delion N., Manguin G. & Corsin P., **2004**, Importance and impact of post treatments on design and operation of SWRO plants, *Desalination Vol. 165, Desalination Strategies in South Mediterranean Countries. GLS, 6A avenue de l'Europe, 78 117 Toussus le Noble, Paris, France*, pp 323-334.
- Delost M. D., **1997**, Introduction to diagnostic microbiology. A text and workbook, *Mosny Year Book Ed. St Louis*, 552 p.
- Desjardins R., **1997**, Le traitement des eaux «Deuxième édition revue et enrichie», *Presses international polytechnique*, 32 p.
- Dillon K. B., Mathey F. & Nixon J.F., **1998**, Phosphorus, *The Carbon Copy, Wiley*.
- Donatienne O. & Brigitte G., **1998**, Transport et devenir de polluants et micropolluants en Seine : rôle des matières en suspension et des sédiments dans les processus de transfert, *Université Pierre et Marie Curie; Paris 6. Grenoble : Atelier national de reproduction des thèses. ISBN: 155896474*, 259 p.
- Doré M., **1989**, Chimie des oxydants et traitement des eaux, *Tech & Doc édition*, 528 p.
- Drapeau A.-J. & Jankovic S., **1977**, Manuel de microbiologie de l'environnement, *O.M.S. (Genève)*.
- Dridi H., Kalla M. & Annab R., **2011**, Modélisation de l'érosion dans le bassin de Oued Reboa et son impact sur le barrage de Timgad - approche multicritères, *FIG Working week 18-22 may 2011 in Marrakech, morocco. Bridging the Gap between Cultures*, pp 1-16.
- Dupray E. & Derrien A., **1995**, Influence du passage de *salmonella spp.* et *E. coli* en eaux usées sur leur survie ultérieure en eau de mer, *Wat. Res. Vol. 29, No. 4. Copyright Elsevier Science Ltd.. 0043-1354*, pp 1005-1011.
- Dussart-Baptista, **2007**, Recurrent recovery of *Pseudomonas oryzihabitans* strains in a karstified chalk aquifer *Water Research 41*, pp 96-102.
- E.C., **2004**, Environment Canada. Water Pollution, [http://www.ec.gc.ca/water/en/manage/poll/e\\_poll.htm](http://www.ec.gc.ca/water/en/manage/poll/e_poll.htm).
- E.C., **2006**, Environment Canada. Quick Facts, [http://www.ec.gc.ca/water/en/e\\_quickfacts.htm](http://www.ec.gc.ca/water/en/e_quickfacts.htm).
- Earle B., **1907**, The bacteriological examination of water supplies, *DOI: 10.1021/ja01963a024, Publication Date: September 1907 j. Am. Chem. Soc., 29 (9)*, pp 1377-1379.
- El Achheb A., Mania J. & Mudry J., **2001**, Processus de salinisation des eaux souterraines dans le bassin Sahel Doukkala (Maroc occidental), *First International Conference on Saltwater Intrusion and Coastal Aquifers-Monitoring, Modeling, and Management. Essaouira, Morocco, April 23-25, 2001*.
- Farmer III J.J., **1999**, Enterobacteriaceae: Introduction and identification. Manual of clinical microbiology, 7<sup>th</sup> edition, *In: P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover et R.H. Tenover (éd.): ASM Press, Washington, D.C.*, pp 442-458.
- Farmer III J.J. & Janda J.M., **2005**, Family I. Vibrionaceae, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, second edition, vol. 2 (The Proteobacteria), part B (The Gammaproteobacteria), Véron 1965, 524<sup>5AL</sup>. In: D.J. Brenner, N.R. Krieg, J.T. Staley And G. M. Garrity (Eds), Springer-Verlag, New York*, pp 491-494.

- Fatta D., Al-Rusan M., Hameed K., Gokcay C., Anayiotou S. & Loizidou M., **2004b**, "The operation of urban wastewater treatment plants and the reuse practices in the Mediterranean countries" The MEDAWARE Project, *INCO-MED Water Conference, Medaqua II, Amman, Jordan, 14-15/06/2004 - Presentation*.
- Fatta D., Ayoub G., Mountadar M., Assobhei O., Papadopoulos A. & Loizidou M., **2005**, "Assessment of the existing situation regarding the urban wastewater treatment and reuse in Cyprus, Morocco, and Lebanon", *5th National Conference of EEDYP for the Integrated Management of Water Resources based on river basins, Xanthi, Greece, 6th-9th April, 2005*.
- Fatta D., Papadopoulos A., Sofokleous C. & Hidalgo D., **2006**, Monitoring the quality of the effluents at Urban Wastewater Treatment Plants: Guidelines for sampling and analyses, *International Conference on Sustainable Water Management Rational Water Use, Wastewater Treatment and Reuse, Marrakech, Morocco*.
- Fatta D., Skoula I., Moustakas K., A. Mentzis, Papadopoulos A., Loizidou M., Salem Z. & Hameed K., **2004a**, "Existing Situation, plans and policies for the wastewater reuse in agriculture in Cyprus, Jordan and Palestine", *International Conference for the protection and restoration of the Environment VII, Mykonos, Greece, 28 th June-1st July 2004 - Presentation*.
- Fernando M.-S., Poul L., Jeppe L. N. & Per Halkjær N., **2007**, Characterization of the loosely attached fraction of activated sludge bacteria, *0043-1354 - see front matter & Elsevier Ltd.. DOI:10.1016/j.watres.2007.08.026. Available at www.sciencedirect.com. journal homepage: www.elsevier.com/locate/watres. Water Research 42, pp 843 – 854*.
- Filella I., Martín F., Garbulsky, Josep P. & Dario P., **2008**, Global change biology, *Article first published online: DOI: 10.1111/j.1365-2486.2008.01684. The Authors. Journal compilation. Blackwell Publishing Ltd. Vol. 14, Issue 12, pp 2773-3013*.
- Ford T. E. & Naiman Robert J., **2011**, Ground water–surface water relationships in boreal forest watersheds: dissolved organic carbon and inorganic nutrient dynamics, *Journal canadien des sciences haliéutiques et aquatiques, 1989, 46(1): 10.1139/j89-006, pp 41-49*
- François D., Marie-Cécile P., Christel M., Edouard B. & Roland Q., **2007**, Bactériologie médicale "Techniques usuelles", *Elsevier Masson SAS- 62 rue Camille-Desmoulins, 92442 Issy-les-Moulineaux cedex., p 15*.
- Frank J. Loge, Robert W. Emerick, Tim R. Ginn & Jeannie L. Darby, **2002**, Association of coliform bacteria with wastewater particles: impact of operational parameters of the activated sludge process, *Elsevier Science Ltd.. PII: S0043-1354(01)00204-4. Water Research 36, pp 41-48*.
- Garrity G.M., Bell J.A. & Lilburn T.G., **2003**, Taxonomic Outline of the Procaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition., Release 4.0., Springer-Verlag, New York. DOI: 10.1007/bergeysoutline200310. http://141.150.157.80/bergeysoutline/main.htm , 397 p*.
- Garrity G.M., Bell J.A. & Lilburn T.G., **2004**, Taxonomic Outline of the Procaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition., Release 5.0., Springer-Verlag, New York. DOI: 10.1007/bergeysoutline200405. http://141.150.157.80/bergeysoutline/main.htm, pp 401*.
- Garrity G.M., Johnson K.L., Bell J.A. & Searles D.B., **2002**, Taxonomic Outline of the Procaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition., Release 3.0., Springer-Verlag, New York.. DOI: 10.1007/bergeysoutline200210. http://141.150.157.80/bergeysoutline/main.htm, 365 p*.
- Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzéby J. & Tindall B.J., **2007**, Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, *Release 7.7. Michigan State University Board of Trustees. DOI: 10.1601/TOBA7.7. http://www.taxonomicoutline.org*.
- Garrity G.M., Winters M., Kuo A.W. & Searles D.B., **2001**, Taxonomic Outline of the Procaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition., Release 1.0., Springer-Verlag, New York. 320 pages. DOI: 10.1007/bergeysoutline. http://141.150.157.80/bergeysoutline/main.htm,*

- Garrity G.M., Winters M., Kuo A.W. & Searles D.B., **2002**, Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition., *Release 2.0.*, Springer-Verlag, New York.. DOI: 10.1007/bergeysoutline. <http://141.150.157.80/bergeysoutline/main.htm>, 350 p.
- Gaujous D., **1995**, La pollution des milieux aquatiques : aide-mémoire, *Edition Technique et Documentation Lavoisier*, 220 p.
- Gauthier M., Pietri C., **1998**, Devenir des bactéries et virus entériques en mer, les microorganismes dans les écosystèmes océaniques, *Edition Masson*, 447p
- Geng Q.Z., **1989**, Modélisation conjointe du cycle de l'eau et du transfert des nitrates dans un système hydrologique, *Thèse de doctorat, École des Mines de Paris*.
- George M. Garrity, Julia A. Bell and Timothy G. Lilburn, **2004**, Taxonomic outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2<sup>nd</sup> edition, *Springer: New York, Berlin, Heidelberg*. DOI: 10.1007/bergeysoutline200405, pp 401.
- Ghizellaoui S. & Ghizellaoui S., **2010**, Evaluation of the quality of waters treated by the activated muds station in Oued El Athmania, *Desalination* **250**. Contents lists available at: *Science Direct*. *Desalination journal homepage: www.elsevier.com/locate/desal*, pp 438-443.
- Gilberte G., Jean-Jacques P., **2003**, Impact of the repetition of oxygen deficiencies on the filamentous bacteria proliferation in activated sludge, *Water Research* **37**, 1991–2000.
- Gilles L., Jean-Louis M., Gilbert D. & Cécile G., **1998**, Quantification des rejets azotés et phosphorés d'une ferme d'élevage en bassins de bars *Dicentrarchus labrax* "Nitrogenous and phosphorous waste production in a flow-through land-based farm of European seabass (*Dicentrarchus labrax*)", *Aquatic Living Resources Volume 11, Issue 4*, pp 247-254.
- Giroux I., **2003**, Contamination de l'eau souterraine par les pesticides et les nitrates dans les régions en culture de pommes de terre «Campagne d'échantillonnage de 1999-2000-2001», *Direction du suivi de l'état de l'environnement. Dépôt légal - Bibliothèque nationale du Québec. Enviro.Doc : ENV/2003/0233*, pp 1-34.
- Gomella C. & Guerree H., **1978**, Le traitement des eaux publiques, industrielles et privées, *Edition Eyrolles Paris*, 262 p.
- Gomez E., Ledoux E., Pascal V., Mignolet C., Benoit M., Bornerand C., Schott C., Mary B., Gilles B., Ducharme A. & Brunstein D., **2003**, Un outil de modélisation intégrée du transfert des nitrates sur un système hydrologique, *La Houille Blanche/N° 3. École des Mines de Paris, CIG, UMR Sisyphe; INRA, SAD, Mirecourt ; INRA, Unité d'Agronomie, Laon ; UMR Sisyphe 7619, Université Pierre et Marie Curie & CNRS, UMR – 1, Meudon.*, 8 p.
- Gomez E., Mignolet C., Mary B., Schott C., Brunstein D., Bornerand C., Ledoux E. & Benoit M., **2002**, Dynamique agricole et pollution nitrique diffuse : Modélisation intégrée du transfert des nitrates sur le bassin de la Seine, *Rapport de synthèse du Programme PIREN-Seine 1998-2001, UMR CNRS 7619 Sisyphe Paris Jussieu*.
- Grosclaude G., **1999**, L'eau : usage et polluants, *Edition INRA*, 210p.
- Grou-Radenez J., **1981**, Milieux et réactifs de laboratoire pasteur, *Institut Pasteur production-Paris 14<sup>e</sup>. 2<sup>e</sup> trimestre* ,pp 199-200.
- Guyard C., **2007**, Analyse de l'eau: Mesure de la DBO<sub>5</sub>: un paramètre qui monte, N° 334 - *L'eau, L'industrie, Les Nuisances*.
- Hejazi A. & Falkiner FR., **1997**, *Serratia marcescens*, *J. Med. Microbiol.* **46**, pp 903-912.
- Hem John D., **1977**, Reactions of metal ions at surfaces of hydrous iron oxide, *Geochemical & Chemical Acta. Vol. 41, Issue 4*, pp 527-538.
- Hem John D., **2003**, Chemical Factors that Influence the Availability of Iron and Manganese in Aqueous Systems, *An earth scientist's periodic table of the elements and their ions Geology, Vol. 31*, pp 737-740

- Hernández L., **2006**, Supervision et diagnostic des procédés de production d'eau potable. (Thèse Doctorat), *Institut national des Sciences Appliquées de Toulouse.*, 151 p.
- Heukelekian H. & Rudolfs, W., **1929**, Effect of aeration and protozoa on B. coil in sewage, *Sewage Wks J. 1*, pp 561-567.
- Houadef M., **19 September 2007**, Barrage Koudiet-Lamdaouar de Batna réduire le déficit de L'eau, *Le soir d'Algérie quotidien algérien indépendant*.
- Hsissou Y., Jacques M., Jacky M., Lhoussaine B. & Pierre C., **1999**, Utilisation du rapport Br/Cl pour déterminer l'origine de la salinité des eaux souterraines: exemple de la plaine du Sousse (Maroc), *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Séries IIA - Earth and Planetary Science Volume 328, Issue 6*, pp 381-386.
- J.O.R.A. Journal Officiel de la République Algérienne , **Septembre 2005**, N° 60, 16p.
- J.O.R.A., Journal Officiel de la République Algérienne, **Juillet 1993**, N°46.
- J.O.R.A., Journal Officiel de la République Algérienne, **Avril 2006**, N°26.
- Jacques C., **2007**, L'eau : Le Miracle oublié, *Guy Trédaniel Editeur ISBN-10: 2857075693*, 239 p.
- Jianfeng L., Yaozhong L., Dieudonné-Guy O., Fenglin Y., Fook-Sin W. & Hwee-Chuan C., **2008**, Impact of filamentous bacteria on properties of activated sludge and membrane-fouling rate in a submerged MBR, *Separation and Purification Technology 59. Elsevier B.V.. DOI:10.1016/j.seppur.2007.06.011*, pp 238-243.
- Jiang X., Mingchao M.A., Jun L.I., Anhuai L.U. & Zhong Z., **2008**, Bacterial diversity of active sludge in wastewater treatment plant, *Earth Science Frontiers, Volume 15, Issue 6, Online English edition of the Chinese language journal*, pp 163-168.
- Job J.-O., Loyer J.-Y. & Ailoul M., **1987**, Utilisation de la conductivité électromagnétique pour la mesure directe de la salinité, *Cahiers ORSTOM. Série Pédologie, 23 (2), ISSN 0029-7259*, pp 123-131.
- John A., Jamie B., Yves C. & Jackie S., **2010**, Normes relatives à l'eau, l'assainissement et l'hygiène en milieu scolaire dans les environnements pauvres en ressources, *ISBN: 978 92 4 154779 6,51*.
- Joly B. & Reynaud A., **2003**, Entérobactéries : systématiques et méthodes d'analyses, *Edition Technique et documentation, Paris*, 356 p.
- Kaisai Z., Futoshi K., Ikuro K., Hiroaki F. & Osami Yagi, **2008**, Analysis of the phylogenetic diversity of estrone-degrading bacteria in activated sewage sludge using microautoradiography-fluorescence in situ hybridization, *Systematic and Applied Microbiology 31. Elsevier GmbH.. DOI:10.1016/j.syapm.2008.03.005*, pp 206–214.
- Kettab Ahmed, **2001**, Les ressources en eau en Algérie: stratégies, enjeux et vision, *Ecole Nationale Polytechnique (ENP) - Alger, Laboratoire de Recherche des Sciences de l'Eau (LRS-EAU) 10, Av. Hacène-Badi, B.P.182 El-harrach 16000 Alger, Algeria. Desalination 136*, pp 25-33
- King D., Le Bas C., Jamagne M. & Daroussin H.R., **1995**, Base de données géographique à l'échelle du 1/1000000. Notice générale d'utilisation. Rapport Technique, UNRA, *Service d'étude des sols et de la carte pédologique de France*.
- Kings S. Metzger W.I., **1968**, *Appl. Microbiol.*, 16, pp 577-578
- Koller E, **2004**, Traitement des pollutions industrielles : eau, air, déchets, sols, boues. ,*Edition DUNOD*, 424 p.
- Labourdette J.-P. & Auzias D., **2012**, Algérie «Le petit futé Algérie» 5<sup>ème</sup>. Édition., *Edition : Petit Futé. Amazon France. ISBN – 9782746925755*.
- Lafont M. & Durbec A., **1996**, Essai de description biologique des interactions entre eau de surface et eau souterraine : vulnérabilité d'un aquifère à la pollution d'un fleuve, *Volume 334, Numbers 1-3, 147-155, 2009 DOI: 10.1007/BF00017364*, pp 119-129.

- Lancefield R. C., **1933**, “A Serological Differentiation of Human and Other Groups of Hemolytic Streptococci”, *J. Exp. Med.* **57**, pp 571-599.
- Lansing Prescott M., John P., Harly Donald A. et Klein, **2007**, Microbiologie, *De Boek & Larcier. Edition De Boek Université, rue des minimes 39, B-1000 Bruxelles. ISBN: 978-2-8041-4256-8*, 105 p.
- Lapage S.P., Sneath P.H.A., Lessel E.F., Skerman V.B.D., Seeliger H.P.R. & Clark W.A., **1990**, International Code of Nomenclature of Bacteria, *American Society for Microbiology, Washington, D.C.*
- Larsen Poul, Jeppe L. N., Tore C. S. & Per H. N., **2008**, Adhesion characteristics of nitrifying bacteria in activated sludge, *Water Research* **42**, Elsevier Ltd.. 0043-1354. DOI: 10.1016/j.watres.2008.02.015. Available at: [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com). Journal home page: [www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres), pp 2814-2826.
- Leclerc H., Gaillard J.L. & Simonet M., **1995**, Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. ,*Edition Doin*, 535p.
- Legube B., Xiong F., Croue J. P. & Doré M., **1990**, Etude sur les acides fulviques extraits d'eaux superficielles françaises - Extraction, caractérisation et réactivité avec le chlore, *Revue des sciences de l'eau Vol. 3, n° 4*, Éditeur: Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE) ISSN : 0992-7158, pp 399-424.
- Lionel G. & Nicolas H., **2010**, Les voyageurs de l'eau «Au gré de leurs rencontres, deux globe-trotters racontent les bouleversements, les combats et les scandales autour de l'eau», *Editions Dunod*, 92 p.
- Luz E. de-Bashan, Manuel M., Juan-Pablo H., Yoav B., **2002**, Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris coimmobilized* in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*, *Water Research Vol. 36* , pp 2941–2948.
- Madigan M. T. & Martinko J. M., **2005**, Brock Biology of Microorganisms, 11<sup>e</sup> édition, *Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ*.
- Madoni Paolo, **1994**, Estimates of ciliated protozoa biomass in activated sludge and biofilm, *Bioresource Technology* **48**: Elsevier Science Limited, pp 245-249.
- Mamoru K., Hideo T., Takahiro K. & Kazunori N., **1999**, *In situ* identification of polyphosphate-accumulating bacteria in activated sludge by dual staining with rRNA-targeted oligonucleotide probes and 4',6-diamidino-2- phenylindol (DAPI) at a polyphosphate-probing concentration, *Wat. Res. Vol. 33, No. 1*, Elsevier Science Ltd.. II: S0043-1354(98)00183-3 0043-1354/98 \$, pp. 257-265.
- Martin G. & Laffort P., **1991**, Odeurs et désodorisation dans l'environnement, *Edition Technique et Documentation Lavoisier*, 452p.
- Mary B., Beaudoin N. & Benoit M., **1997**, Prévention de la pollution nitrique à l'échelle du bassin d'alimentation en eau, *In : Lemaire G., Nicolardot N. (Édits.) : Maîtrise de l'azote dans les agro-systèmes, Paris, INRAÉditions, Collection Les Colloques*, **83**, pp 289-312.
- Mauguin G. & Corsin P., **2004**, Concentrate and other waste disposals from SWRO plants: characterization and reduction of their environmental impact, *Desalination, Volume 182, Issues 1-3*, pp 355-364.
- Michel J., **2011**, Architectes de l'eau en Provence de la Renaissance et le XXe siècle, *Actes Sud*, 544 p.
- Michèle D., **2011**, Montréal et l'eau. Une histoire environnementale, *Boréal. ISBN-13: 9782764620953*, 308 p.
- Monnet D. & Freney J., **2000**, *Citrobacter.*: Précis de bactériologie clinique, *In : J. Freney, F. Renaud, W. Hansen Et C. Bollet Editions Eska, Paris*, pp. 1193-1200.
- Mountadar M., Garmes H., Bouraji A. & Yousrani K., **2010**, Contamination des eaux souterraines et des sois par tes fluorures et leur impact à proximité des mines et d'usines d'exploitation des phosphates (Maroc), *European water quality. Numéro Cahiers de l'ASEES. Vol. 5, N° 1*, pp 61 -69

- Muller A., Wentzel M.C., Loewenthal R.E. & Ekama G.A. , **2003**, Heterotroph anoxic yield in anoxic aerobic activated sludge systems treating municipal wastewater, *Water Research* **37**, pp 2435–2441.
- Mustin M., **1987**, Le Compost: Gestion de la matière organique, *Edition François Dubus - Paris.*, 954p.
- Nadot J., **1995**, Etude et traitement d'un problème organoleptique survenu à l'usine de production des eaux d'alimentation de Mathay, *Association général des hygiénistes et techniciens municipaux AGHTM. Congrès N°74, Nîmes, FRANCE, n°10(8 réf.)*, pp. 749-753.
- Nakamura, K., A. Hiraishi, Y. Yoshimi, M. Kawaharasaki, K. Masuda, & Y. Kamagata., **1995**, *Microlunatus phosphovor* gen. nov., sp. nov., a new Gram-positive polyphosphate- accumulating bacterium isolated from activated sludge, *Int. J. Syst. Bacteriol.* **45**, pp 17-22.
- Nakamura K., Masuda K., & Mikami E., **1989**, Polyphosphate accumulating bacteria and their ecological characteristics in activated sludge process, *In: T. Hattori, Y. Ishida, Y. Maruyama, R. Y. Morita, and A. Uchida (Eds.)*.
- Narkevich I.P., Pechkovskij V. V., Plyshevskij S.V., Gorbunov I.F. & Kalmanovich I.K., **1984**, Utilisation des boues d'une station de neutralisation des eaux résiduaires pour la production d'engrais complexes mixtes use of sheries of wastewater neutralization installation for complex-mixed fertilizers production, *n°1, (11 réf.)*, pp. 32-34.
- Needham P., **2010**, Water and the development of the concept of chemical substance. , *T. Tvedt, and T. Oestigaard, éd., A History of Water Vol. 4: The Ideas of Water from Antiquity to Modern Times, I.B. Tauris, London.*
- Nisbet M. & Verneaux J., **1970**, Composantes chimiques des eaux courantes «discussion et proposition de classes en tant que bases d'interprétation des analyses chimiques», *Annales de limnologie* **6**, fasc. 2, pp. 161-190.
- Normes Québécoises, **2004**, Mode de conservation pour l'échantillonnage de rejets liquides, *Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. DR-09-04. Édition 2004-04-28*, 10p.
- Norris V., Blaauwen T. & Cabin-Flaman A., **2007**, Functional taxonomy of bacterial hyperstructures, *In Microbiol. Mol. Biol. Rev., vol.71, n°1, mars 2007*, pp. 230–53.
- O'Neill A., Foy R.H. & Phillips D.H., **2011**, Phosphorus retention in a constructed wetland system used to treat dairy wastewater, *Bioresource Technology journal homepage: www.elsevier.com/locate/biortech. Elsevier Ltd.* **102**, pp 5024–5031.
- Odier M. & Plichon V., **2001**, Le cuivre en solution dans l'eau de mer: forme chimique et dosage : Étude par polarographie à tension sinusoïdale surimposée, *Analytical Chemical Acted. Vol. 55, Issue 1*, pp 209-220.
- Olivier B. & Jérémy D., **2011**, Coûts des principales pollutions agricoles de l'eau. Service de l'économie, de l'évaluation et de l'intégration du développement durable, *Commissariat général au développement durable n° 52. Collection « études et documents » du service de l'économie, de l'évaluation et de l'intégration du développement durable (SEEIDD) du Commissariat Général au Développement Durable (CGDD)*, 26 p.
- Ollivon D., Garban B., Blanchard M., Teil M.-J., & Chevreuil M., **1998**, Contamination des eaux usées de l'agglomération Parisienne par les micropolluants poly aromatiques : HAP et PCB. Thème 5- Micropolluants urbains-HAP et PCB en eau usée, *Laboratoire d'Hydrologie et Environnement, EPHE, UMR Sisyphe 7619, Université P. et M. Curie, Paris*, p 8.
- OMS, **1979**, Rapport de la treizieme session de la commission mixte fao-oms du codex alimentarius, *Organisation de l'alimentation et de l'agriculture des Nations Unies. Éditeur Fao-Oms, Organisation mondiale de la santé. ISBN : 9252009124, 9789252009122* ,107p.
- OMS, **1980**, La lutte anti-vectorielle par l'aménagement de l'environnement «Quatrième rapport du comité OMS d'expert de la biologie des vecteurs et de la lutte anti-vectorielle», *Organisation mondiale de la santé. Série de rapports techniques 649. Genève. ISBN - 92 4 220649 0*, pp 1-80

- OMS, **1993**, Guide pour la lutte contre le choléra. Prévention et contrôle-manuel, ISBN 92 4 254449 3  
Imprimé en Suisse, 76 p.
- OMS, **2004**, Directives pour la qualité de l'eau de boisson, *Organisation mondiale de la Santé. ISBN 92 4 254638 0. ISBN 978 92 4 254638 5 Quatrième édition Vol. 1.*
- OMS, **2010**, Manuel de plan de gestion de la sécurité sanitaire de l'eau: gestion des risques à chaque étape de la distribution d'eau de boisson, ISBN: 978 92 4 256263 7, 116p.
- OMS, **2011**, Risque de détérioration des services d'assainissement et d'accès à l'eau, *Evaluation annuelle mondiale de l'ONU- Eau sur l'assainissement et l'eau potable: cibler les ressources pour de meilleurs résultats.*
- OMS & AARN, **2008**, Standardisation de l'antibiogramme 5<sup>ème</sup> édition, *Institut Pasteur d'Algérie Alger*  
<http://www.sante.dz/aarn/index.htm>, p112.
- OMS/UNICEF, **2008**, L'accès à l'eau potable s'améliore mais trop peu bénéficie de l'assainissement amélioré, *Eau - Pollution de l'eau - Pollution de la mer - Sécheresse.*
- ONA, **2007**, Office national d'assainissement, *fiche de présentation de la station d'épuration de Timgad.*
- Overnell J., Harvey S. M. & Parkes R. J., **1996**, A biogeochemical comparison of sea loch sediments. Manganese and iron contents, sulfate reduction and oxygen uptake rates, *Elsevier, Paris, France Oceanological Acta ISSN: 0399-1784 Coden Ocacd 9, Vol. 19, n°1, pp.41-55*
- Pagilla K. R., Sood A., & Kim H., **2001**, Gordona (*Nocardia*) amarae foaming due to biosurfactant production, In: V. Tandoi, R. Passino, and C. M. Blundo (Eds.) *Proceedings of the IWA International Specialised Conference on Microorganisms in Activated Sludge and Bioprocesses, Rome, Italy*, pp 402-408.
- Paola F., Bruni L., Andreottola G. & Ziglio G., **2007**, Effects of sonication on bacteria viability in wastewater treatment plants evaluated by flow cytometry-Fecal indicators, wastewater and activated sludge, *Water Research 41. 0043-1354. Elsevier Ltd. DOI: 10.1016/j.watres.2006.08.021, Journal homepage. Available at: www.sciencedirect.com, pp 235-243.*
- Paolo M., **1993**, A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis, *Wat. Res. Vol. 28, No. 1, pp. 67-75.*
- Paolo M. & Donatella D., **1993**, Control of *Microthrix parvicella* growth in activated sludge, *FEMS Microbiology Ecology 12. Federation of European Microbiological Societies 0168-6496/93/\$06.00. Published by Elsevier. FEMSEC 00475, pp 277-284.*
- Paolo M., Donatella D. & Emanuela C., **1993**, Comparative analysis of the activated sludge microfauna in several sewage treatment works, *Wat. Res. Vol. 27, No. 9, pp. 1485-1491.*
- Paquerot S., **2007**, Ressources en eau : les différentes facettes des conflits internationaux, *Lex Electronica, vol. 12 n°2 (Automne / Fall 2007).http://www.lex-electronica.org/articles/v12-2/paquerot.pdf, pp 28*
- Pathmalal M., **2000**, Algicidal effect of the bacterium *Alcaligenes denitrificans*, *On Microcystis Spp. Aquatic Microbial Ecology Vol 22, pp 111-117.*
- Pearson H., **2005**, Microbiology of waste stabilization ponds, In: A. Shilton (Ed.): *Pond Treatment Technology. London: IWA Publishing, pp.14-48.*
- Peñuelas J., This R. & Iolanda F., **2009**, Phenology Feedbacks on Climate Change, *Perspective Ecology Seasons and Life Cycles. Heidi Steltzer and Eric Post, Science: Vol. 324 n°. 5929 DOI: 10.1126/science.1173004., pp 886-888.*
- Pettyjohn-Wayne A., **1973**, Hydrogeologic aspects of contamination by high chloride wastes in Ohio, *Water, Air, & Soil Pollution Vol. 2, N° 1, DOI: 10.1007/BF00572388, pp 35-48.*
- Pettyjohn-Wayne A., **1982**, Cause and effect of cyclic changes in ground-water quality, *Ground Water Monitoring & Remediation Vol. 2, Issue 1 DOI: 10.1111/j.1745-6592.1982.tb00823., pp 43-49.*

- Pichinoty F., Manley M., Bruce G. & Jean-Louis G., **1975**, Microbiologie. - Isolement à partir du sol et étude d'une bactérie dénitrifiante appartenant au genre *Alcaligenes*, *C. R. Acad. Sc. Paris*, **28. Série D** – 1273.
- Pierre-Alain R., Gilles B., Jean-Paul B., Henri D., Didier P., Eric V., Jean-Gabriel W., **2005**, Les enjeux de recherche liés à la directive-cadre européenne sur l'eau. Research needs for the implementation of the water European Framework Directive, *Competes Rndus Geosciences, Volume 337, Issues 1-2*, pp 243–267.
- PNUE / OMS., **1979**, Recommandation pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles, Bureau régional de l'oms pour l'Europe, Copenhague, 168p.
- Pujol R., Duchene PH., Schetrite S. & Canler J. P., **1991**, Biological foams in activated sludge plants: Characterization and situation, *Wat. Res. Vol. 25, No. 11*, pp. 1399-1404.
- Ramade F., **1998**, Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. *Paris, Edi. Science internationale*, 785 p.
- Ramade F., **2005**, Éléments d'écologie. Écologie appliquée 6<sup>e</sup> édition., *DUNOD, Paris, France.*, pp 62-65.
- Rappé M. & Giovannoni S., **2003**, «The uncultured microbial majority », *Annu Rev Microbiol 57*, pp 369-394.
- Raymond D., **1997**, Le coût imaginaire de la pollution agricole des eaux, <http://www.agriculture-environnement.fr/a-la-une,6/le-cout-imaginaire-de-la-pollution-agricole-des-eaux,767.html>.
- Rejsek F., **2002**, Analyse des eaux : Aspects Réglementaires et Techniques. ,*Edition SCEREM*, 360p.
- René C., **2011**, Conseil Mondial De l'eau de l'origine jusqu'au forum mondial de La Haye, *Edition Johanet. ISBN : 2-900086-92-2*, 190 p.
- René C., **2012**, Conseil mondial de l'eau : entre les forums de La Haye et de Marseille, *Editeur : Johanet*, 246 p.
- René R., **2007**, Rapport technique. Recherche appliquée pour les filières agricoles d'exportation, développement et stratégie de diffusion de systèmes de culture améliorées pour l'exploitation rationnelle et durable des Tanety, *Tanindrazana-Fahafahana-Fandrosoana; Ministère de L'Agriculture de l'Élevage et de la Pêche , Projet de Soutien au Développement Rural, Unite Nationale d'Exécution du Projet. Projet TH : 034, Contrat N° 25-06/IDA/MAEP/PSDR/UNEP/FCRA. REPOBLIKAN'I MADAGASIKARA.*, 98p.
- Roche P.-A., Miquel J. & Gaume E., **2012**, Hydrologie quantitative : Processus, modèles et aide à la décision, *Edition springer: ISBN: 978-2-8178-0105-6*, 583p.
- Rodier J., Bazin C., Broutin J.-P., Chambon P., Champsaur H. & Rodi L., **2009**, L'analyse de l'eau «eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer», *Edition Dunod, 9<sup>ème</sup> Édition. ISBN 2 10 002416 7*, 1530 p.
- Roger D., **2001**, L'eau et la vie «Préface de Riccardo Petrella», *édition Johanet*, 222 p.
- Ruban G., Bertrand-Krajewski J.-L., Chebbo G., Gromaire M.-C. & Joannis C., **2006**, Précision et reproductibilité du mesurage de la turbidité des eaux résiduaires urbaines sur échantillons, *La Houille Blanche, N°4, DOI: 10.1051/lhb: 200604022*, pp 129-135.
- Sarazin G., Ildefonse Ph. & Muller J.P., **1982**, Contrôle de la solubilité du fer et de l'aluminium en milieu ferralitique, *Geochimica et Cosmochimica Acta. Vol. 46, Issue 7*, pp 1267-1279.
- Seltz P., **1946**, Le climat de l'Algérie. , *Université d'Alger. Institute Météo et physique du globe. Alger, Algérie.*, pp 219.
- Simon J., **1975**, ALGÉRIE. L'abandon sans la défaite (1958-1962), CREAC-Histoire. Histoire Maghreb, Monde Arabe, Moyen Orient Algérie, 316 p.
- Simon J., **1990**, Algérie: le passé, l'Algérie française, la révolution, 1954-1958, p. 279.

- Simon J., **1992**, Bibliographie systématique des ouvrages et articles concernant le droit international publiés en langue française, *Vol. 38, N° 38*, pp. 1286-1375.
- Singleton P., **2005**, Bactériologie: pour la médecine, la biologie et les biotechnologies, cours, 6<sup>e</sup> édition, *édition Dunod*.
- Slansky M., **2012**, Phosphore, *Encyclopédie Universalis*.
- Snaidr J., Rudolf A., Ingrid H., Wolfgang L. & Karl-Heinz S., **1997**, Phylogenetic Analysis and In Situ Identification of Bacteria in Activated Sludge, *Applied And Environmental Microbiology*, *Vol. 63, No. 7: Copyright : American Society for Microbiology*, pp. 2884-2896.
- Sneath P.H.A. & Brenner D.J., **1992**, "Official" nomenclature lists., *ASM News:58*, 175 p.
- Stéphanie V., Kate S., Karim E., Christian F. & Jens M., **2007**, Impact of agitation and aeration on hydraulics and oxygen transfer in an aeration ditch: Local and global measurements, *Chemical Engineering Science 62*. [www.elsevier.com/locate/ces](http://www.elsevier.com/locate/ces), pp 2545-2555
- Suckling, Ernest Victor, **1943**, The examination of water supplies. Fifth Edition, *The Examination of Waters and Water Supplies*. ISBN: 19432701956, pp 849.
- Surdin D., **2012**, Ammonium ion, *Encyclopédie Universalis*.
- Taha H., **2002**, Evolution de la qualité des eaux (salinité, azote et métaux lourds) sous l'effet de la pollution saline, agricole et industrielle, *Thèse de doctorat. Université de Franche comite*, 199 p.
- Tandia A.A., Gaye C.B. & Paye A., **1997**, Origine des teneurs élevées en nitrates dans la nappe phréatique des sables quaternaires de la région de Dakar, Sénégal, *Science et changements planétaires / Sécheresse*. *Vol. 8, N° 4, Article scientifique*, pp 291-294.
- Tarmou F., **2007**, Détermination de la pollution résiduelle d'une station d'épuration par lagunage naturel "cas de la lagune de béni-messous", *Institut des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral – DEUA* ;
- Tawan L., Yuko S., Futoshi K. & Osami Y., **2005**, Communities of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge of various sewage treatment plants in Tokyo, *Published by Elsevier B.V. on behalf of the Federation of European Microbiological Societies*. DOI:10.1016/j.femsec.2005.03.017.
- Taylor W.I. Schelhaut D., **1971**, *Appl. Microbiol.*, vol. **21**, pp 32-37.
- Tiri A., Boudoukha A., Bouguerne A. & Lahbari N., **2007**, Influence of the industrial and urban waste water on the quality of water (case of Koudiat Medouar Watershed), *Journal of engineering and application sciences 2(11): ISSN: 1816-949*, pp 1592-1597.
- Toltzis P. & Blumer J.L., **1995**, Antibiotic-resistant gram-negative bacteria in the critical care setting. *Pediatric Clin North Amer*, **42**, 687p.
- Valiron F., **1983**, La réutilisation des eaux usées, *Edition Technique et Documentation Lavoisier*, 207p.
- Véronique Le Marchand, **2004**, L'Eau : Source de vie, source de conflits, *Editions Milan ISBN-10: 2745911791*, 64 p.
- Warner A. P. C., Ekama G. A. & Marais G. V. R., **1986**, The activated sludge process-IV Application of the general kinetic model to anoxic-aerobic digestion of waste activated sludge, *War. Res. Vol. 20, No. 8, Pergamon Journals Ltd.*, pp. 943-958.
- Wetzel Richard L. & Laura M., **1987**, Oxygen production and consumption associated with the major autotrophic components in two temperate sea grass communities, *In. Ecology - Progress Series Ecol. Prog. Ser.38*, pp 231-239
- Wilhelm F., **2008**, Protist diversity and distribution: some basic considerations, *Review : Biodiversity and Conservation, Éditeur: Springer Netherlands, Volume 17, Number 2 (ISSN 0960-3115) Print (ISSN 1572-9710)*, pp 235-242.
- Williams T. M. & Unz R. F., **1985**, Isolation and characterization of filamentous bacteria present in bulking activated sludge, *Appl. Microbiol. Biotechnol. Vol. 22:*, pp 272–282.

- Wu S., Zbigniew W. K. & Bryson B., **2008**, Le changement climatique et l'eau, *Académie des sciences, Pologne et Institut de recherche de Potsdam sur les incidences du climat, Allemagne. l'Unité d'appui technique du Groupe de travail II du GIEC.*, 1-10
- Xiaohui W., Xianghua W., Craig C., George W., Jie Z. & Yin Z., **2010**, Community analysis of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge of eight wastewater treatment systems, *Journal of Environmental Sciences*, **22**(4), pp 627–634.
- Yu V.L., **1979**, *Serratia marcescens*: historical perspective and clinical review, *N. Engl. J. Med.*, pp 887-893.
- Zaza B., **2004**, La valeur de l'eau, *Editeur : Chiron, ISBN-10: 2702710417*, 191 p.
- Zorzi L. & Reina C., **1964**, Cycles d'évolution de la composition chimique des eaux souterraines / dans certaines situations hydrogéologiques typiques du bassin de la méditerranée, *International Association of Scientific Hydrology. Bulletin. Vol. 9, Issue 1, Issue: DOI: 10.1080/02626666409493653*, pp 42-51.

---

La bibliographie été réaliser selon la norme ISO 690 de 1987 décrit les standards des références bibliographiques aux documents imprimés. Les supports électroniques selon une seconde partie de cette norme, ISO 690-2 (février 1997), traitant les références bibliographiques aux documents électroniques. Conformément les homologues français des normes ISO 690 et ISO 690-2 sont la norme AFNOR NF Z 44-005 (décembre 1987) et la norme AFNOR NF Z 44-005-2 (janvier 1998).

## Annexe 01 La conservation des échantillons

**Tableau 23:** Conservation des échantillons (Normes Québécoises).

PARAMÈTRE	AGENT DE CONSERVATION	CONTENANT	VOLUME SUGGÉRÉ (l)	DÉLAI DE CONSERVATION
<b>CHIMIE INORGANIQUE</b>				
Acidité	N	P, T, V	0,1	14 jours
Alcalinité	N	P, T, V	0,1	14 jours
Azote ammoniacal	AS	P, T, V	0,2	28 jours
Azote total Kjeldahl	AS	P, T, V	0,1	28 jours
Carbone inorganique total	N	P, T, V	0,1	28 jours
Carbone organique total	AS	P, T, V	0,1	28 jours
Chlore (résiduel)	N	P, T, V	0,1	SITE
Chlorures	N	P, T, V	0,2	28 jours
Chrome hexavalent (VI)	N	P, T, V	0,2	LAB/24 heures
Conductivité	N	P, T, V	0,2	28 jours
Couleur vraie	N	P, T, V	0,1	2 jours
Cyanates	NaOH	P, T, V	0,5	14 jours
Cyanures	NaOH	P, T, V	0,5	14 jours
DBO <sub>5</sub>	N	P, T, V	0,5	48 heures à 4 °C ou congélation 6 mois
DCO	AS	P, T, V	0,1	28 jours
Dureté	AN	P, T, V	0,1	6 mois
Fluorures	N	P, T	0,2	28 jours
Indice phénol	AS	V	0,2	28 jours
Mercure	AN	T, VT, P	0,5	28 jours
Métaux (Ag, Al, As, B, Ba, B, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Sn, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Si, U, Zn)	AN	P, T, V	0,5	6 mois
Nitrites	N	P, T, V	0,2	2 jours
Nitrites + nitrates	AS	P, T, V	0,1	28 jours
o-phosphates	N	P, T, V	0,2	14 jours
pH	N	P, T, V	0,1	24 heures
Phosphore inorganique	AS	P, T, V	0,1	28 jours
Phosphore total	AS	P, T, V	0,1	28 jours
Salinité	N	P, T, V	0,1	28 jours
Solides décantables	N	P, T, V	2	7 jours
Solides dissous et/ou volatils	N	P, T, V	0,5	7 jours
Solides en suspension et/ou volatils	N	P, T, V	1	7 jours
Solides totaux et/ou volatils	N	P, T, V	0,5	7 jours
Sulfates	N	P, T, V	0,1	28 jours
Sulfites	N	P, T, V	0,2	14 jours
Sulfures	AcZn et NaOH	P, T, V (B)	0,2	28 jours
Tanins et lignines	N	P, T, V	0,2	7 jours
Thiocyanates	AN	P, T, V	0,2	14 jours
Thiosulfates	N	P, T, V	0,2	14 jours
Turbidité	N	P, T, V	0,1	48 heures

Suite tableau 01 :

PARAMÈTRE	AGENT DE CONSERVATION	CONTENANT	VOLUME SUGGÉRÉ (l)	DÉLAI DE CONSERVATION
<b>CHIMIE ORGANIQUE</b>				
Acides résiniques et gras	AS	VA, VT	1	28 jours
Aldicarb et métabolites	TS	P	0,1	7 jours
Biphényles polychlorés GCMS	N	VA, VT	1	30 jours
Biphényles polychlorés GCHRMS	N	VA, VT	2 x 0,5	30 jours
Composés organiques halogénés adsorbables (A0X)	AN	VB (B)	0,5	14 jours
Composés organiques semi-volatils	N	VA, VT	1	28 jours
Composés organiques volatils	N	VF (B)	3 bout. de 40 ml	21 jours
Composés phénoliques	AS	VA, VT	1	28 jours
Détergents (L.A.S)	N	VA, VT	1	28 jours
Diquat et paraquat	N	P	0,25	7 jours
Dioxines et furanes	N	VA, VT	2 x 0,5	30 jours
Formaldéhyde	T	VF (B)	3 bout. de 40 ml	9 jours
Glyphosate	TS	P	0,25	7 jours
Huiles et graisses totales (gravimétrie)	AS	VA, VT	1	28 jours
Hydrocarbures pétroliers (C <sub>10</sub> à C <sub>50</sub> )	AS	VA, VT	1	28 jours
Hydrocarbures polycycliques aromatiques	N	VB	1	28 jours
Pesticides (aryloxyacides)	AS	VA, VT	1	21 jours
Pesticides (organochlorés)	N	VA, VT	1	28 jours
Pesticides (organophosphorés)	N	VA, VT	1	7 jours
Pesticides (triazines)	N	VA, VT	1	7 jours
Pesticides (autres)	N	VA, VT	1	7 jours
Produits pétroliers	AS	VA, VT	1	28 jours
Surfactants anioniques	N	VA, VT	1	28 jours
Surfactants non ioniques	N	VA, VT	3 x 1	28 jours
Surfactants non ioniques (npeo et npec)	F	VBL	1	12 jours
Trihalométhanes (THM)	N	VF (B)	3 bout. de 40 ml	21 jours
<b>MICROBIOLOGIE</b>				
Tous les paramètres bactériologiques	E, TS	PPS ou VS	0,1	48 heures

Le tableau a été dressé selon les normes suivantes :

**NF EN ISO 5667-3 (Juin 2004).** Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 3 : lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau (Indice de classement : **T90-513**).

**FD T90-520 (Octobre 2005).** Qualité de l'eau – Guide technique de prélèvement pour le suivi sanitaire des eaux en application du code de la santé publique (Indice de classement : **T90-520**).

**NF EN ISO 5667-1 (Mars 2007).** Qualité de l'eau – Échantillonnage – Partie 1 : lignes directrices pour la conception des programmes et

des techniques d'échantillonnage (Indice de classement : **T90-511-1**).

**FD T90-523-1 (Février 2008)**. Qualité de l'eau – Guide de prélèvement pour le suivi de qualité des eaux dans l'environnement – Partie 1 : prélèvement d'eau superficielle (Indice de classement : **T90-523-1**).

**FD T90-523-3 (Janvier 2009)**. Qualité de l'eau – Guide de prélèvement pour le suivi de la qualité des eaux dans l'environnement – Partie 3 : prélèvement d'eau souterraine (Indice de classement : **T90-523-3**).

## Annexe 02

## Préparation des milieux de cultures et lecture des résultats

## 1. Milieux de cultures

## 1.1. Les Géloses

## 1.2. Gélose nutritive

**Composition :**

Formule en grammes par litre d'eau distillée :

- Extrait de viande de bœuf déshydraté 3 g
- Peptone pancréatique de caséine 5 g
- Chlorure de sodium 5 g
- Agar-agar en poudre ou en paillettes 15 g
- Eau déionisée q.s.p. 1 000 ml. (**Grou-Radenez, 1981 ; François et al., 2007 ; Rodier et al., 2009**).

**Préparation :**

Introduire les composants dans l'eau, les dissoudre par chauffage à la vapeur. Ajuster le pH à  $7,0 \pm 1$  avec une solution d'hydroxyde de sodium N. Répartir dans des tubes à raison de 18 ml par tube. Stériliser à  $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  à l'autoclave pendant 20 min, conserver les tubes à  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Utilisation :**

Dans des boîtes de Pétri stériles couler une quantité suffisante du milieu préalablement fondu, puis refroidi à  $50\text{-}45^{\circ}\text{C}$  environ. Puis ensemer en stries, incubé à la température voulus ( $20\text{-}30^{\circ}\text{C}$ ) pendant  $24\text{h} \pm 1\text{h}$ .

**Lecture :**

Après incubation toutes les colonies sont dénombrer avec détail de leur différents aspects, ceci nous permet d'estimer de manière approchée la quantité de bactéries dans 1ml d'échantillon (ou des dilutions).

## 1.3. Gélose V.R.B.G.

**Composition :**

Formule en grammes par litre d'eau distillée :

- Peptone 7g
- Extrait de levure 3g
- Sels biliaires 1,5g
- Glucose 10g
- Lactose 10g
- Chlorure de sodium 5g
- Agar 12g
- Rouge neutre 0,03g
- Cristal violet 0,002g

pH finale 7,4g (**Joly B. & Reynaud A., 2003**).

**Préparation :**

Mettre 48,5g de milieu déshydraté dans 1l d'eau distillée préalablement portée à  $100^{\circ}\text{C}$  pendant 10minutes, puis ramenée à la température du laboratoire. Attendre 5minutes, puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Faire chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à complète dissolution. Ajuster, si nécessaire, le pH à 7,4. Répartir ; le milieu ne doit pas être autoclavé.

**Utilisation :**

Dans des boîtes de Pétri stériles, placer 1ml du produit à analysé ou des différentes dilutions à examiner en se servant d'une pipette stérile. Couler rapidement une quantité suffisante du milieu préalablement fondu, puis refroidi à  $50\text{-}45^{\circ}\text{C}$  environ. Agiter doucement par un mouvement de 8 pour bien mélanger. Laisser refroidir sur une surface parfaitement horizontale. Dès que la solidification est parfaite, couler au-dessus de cette première couche une seconde couche du milieu stérile d'une épaisseur de 2mm environ, laissé refroidir à nouveau. Après solidification complète, retourner les boîtes et les incuber dans cette position à  $30\text{-}37^{\circ}\text{C}$  (règlement nationaux) pendant  $24\text{h} (\pm 1\text{h})$ . (**Grou-Radenez, 1981 ; François et al., 2007 ; Rodier et al., 2009**).

**Lecture :**

Après 24h d'incubation, dénombrer les colonies rouges ayant un diamètre d'au moins 0,5 mm et rapporter le résultat à l'unité du produit examiné (**Grou-Radenez, 1981**).

## 1.4. Gélose Hektoen

**Composition :**

Formule en grammes par litre d'eau distillée :

- Protéose peptone 12g
- Extrait de levure 3g
- Chlorure de sodium 5g
- Thiosulfate de sodium 5g
- Sels biliaires 9g
- Citrate de fer ammoniacal 1,5g

-Salicine 2g  
 -Saccharose 12g  
 -Lactose 12g  
 -Fuschine acide 0,1g  
 -Bleu de bromothymol 0,065g  
 -Agar-agar 14g

pH 7,5 ± 0,2 (Joly B. & Reynaud A., 2003).

#### Préparation :

Verser 76g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer légèrement et laisser bouillir quelques secondes. Ne jamais autoclaver l'Hektoen. Refroidir à 60°C et couler en boîtes de pétri. (Grou-Radenez, 1981 ; François *et al.*, 2007 ; Rodier *et al.*, 2009).

La présence de cristaux de sels biliaires ne gêne en rien la qualité des cultures.

#### Utilisation :

Ce milieu, par la qualité nutritive des peptones et des sucres qui neutralisent l'effet inhibiteur des sels biliaires vis-à-vis de certains germes délicats, permet une bonne culture des *Shigelle*.

Le pouvoir inhibiteur du milieu porte principalement sur *E.coli*, moins que sur *Proteus* et *Citrobacter*. (Grou-Radenez, 1981).

#### Lecture :

L'orientation diagnostique fondée sur l'aspect des différentes colonies est basée sur la fermentation éventuelle de trois sucres : lactose, saccharose, salicine. En présence de citrate de fer et d'hyposulfite de sodium, les germes producteurs d'hydrogène sulfuré donnent des colonies à centre noir ; voir totalement noir. (Grou-Radenez, 1981).

Colonies saumon : - *Escherichia* – *Citrobacter* – *Klebsiella* – *Enterobacter* – *Serratia* – *Y. enterocolitica* – *Hafnia alvei* (*E. hafniae*).

Colonies saumon à centre noir : - *Proteus*.

Colonies bleues à centre noir : - *Proteus* - *Salmonella* – *Edwardsiella*.

Colonies vertes : *Shigella* – *Providencia* – *Plasiomonas* – *Aeromonas*.

Colonies bleues brunâtre petites : *Pseudomonas* (test oxydase pour confirmé).

Colonies jaune rosé : *Vibron cholérique*. (Kings & Metzger, 1968 ; Taylor & Schelhaut, 1971).

### 1.5. Gélose Chapman

#### Composition :

Formule en grammes par litre d'eau distillée :

-Péptone bactériologique 10g  
 -Extrait de viande de bouf 1g  
 -Chlorure de sodium 75g  
 -Mannitol 10g  
 -Rouge de phénol 0,025g  
 -Agar-agar 15g

pH 7,5 ± 0.2

#### Préparation :

Verser 111g de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

#### Utilisation :

Le milieu Chapman est utilisé pour 'isolement des staphylocoques. Le pouvoir inhibiteur de chlorure de sodium permet d'ensemencer abondamment les boîtes Pétri.

La lecture des résultats est effectuée après 24 et 48h d'incubation à 37°C.

#### Lecture :

Les souches de *Staphylococcus aureus* forment des colonies luxuriantes et élaborent leur propre pigment. Les colonies s'entourent en 24 à 48h d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol. Les souches *St. epidermis* donne naissance à de petites colonies qui, dans la majorité des cas, se développent sans modifier la teinte du milieu. Cependant, il faut noter qu'une minorité non négligeable de cette souche est capable de fermenter le mannitol.

Cette épreuve, qui permet seulement d'orienter le diagnostic, devra toujours être complétée par la recherche de la production de coagulase et, éventuellement, de désoxyribonucléase et de la phosphatase. (Chapman, 1945 ; Grou-Radenez, 1981).

### 1.6. Gélose Mac Conkey

#### Composition :

Formule en grammes par litre d'eau distillée : (Grou-Radenez, 1981 ).

-Peptone bactériologique 20g  
 -Sels biliaires 1,5g  
 -Chlorure de sodium 5g  
 -Lactose 10g  
 -Rouge neutre 0,03g  
 -Cristal violet 0,001g  
 -Agar\_ agar 15g

#### Préparation :

Verser 51,5g de poudre dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir jusqu'à dissolution complète. Ramener à 50°C puis couler en boîtes de Pétri. Après solidification, laisser sécher à l'étuve à 37°C, couvercle entrouvert. (**Joly & Reynaud, 2003**).

**Utilisation :**

a) Ensemencer en surface de manière à obtenir des colonies bien isolées, incubé 18 à 24h à 37°C.

b) Pour effectuer des numérations d'entérobactéries dans les eaux, l'inoculum est versé sous un volume de 1ml dans les boîtes de Pétri. Le milieu MacConkey liquifié et ramné à 45°C sera en suite versé dans la boîte et mélangé à l'inoculum.

Après solidification du milieu, la boîte est placée dans l'étuve à 37°C. La numération est effectuée après 18 à 24h d'incubation.

**Lecture :**

Colonies incolores : lactose négatif.

Colonies rouges brique entourées d'un halo opaque de sels biliaires précipités : lactose positives. (**Rodier et al., 2009**).

*N.B.* : l'étude des caractères biochimiques sera faite suivant la technique de galeries API20E, puis utilisation des sérums si nécessaire pour *Salmonella* et *Shigella*.

**1.7. Gélose B.C.P. :**

**Composition ;**

Formule en grammes par litre d'eau distillée :

- Peptone 5g
- Extrait de viande 3g
- Lactose 10g
- Agar-agar 12,5g
- Pourpre de bromocrésol 0,025g
- pH 7,00 ± 0,2 (**Leclerc et al., 1995**).

**Préparation :**

Mettre 30,5g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger soigneusement jusqu'à complète dissolution et obtention.

Ajuster si nécessaire, le pH à 7. Répartir, puis stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

**Utilisation :**

Ce milieu est couramment utilisé au cours de l'examen bactériologique des eaux. Après

ensemencement, le milieu est incubé à 37°C pendant 18 à 24h avant d'être examiné. Ce délai ne doit pas être dépassé sous peine d'entraîner des erreurs d'interprétation. (**Grou-Radenez, 1981**).

**Lecture :**

La fermentation du lactose se manifeste par une production d'acide qui entraîne le virage de l'indicateur au jaune. Les colonies bleues proviennent de germes lactose négatif.

Colonies muqueuses : *Klebsiella* – *E.coli* possédant l'antigène A.

Colonies smooth ou rough laissant passer la lumière lorsqu'on les examine par transparence : *E. coli* – *Citrobacter*.

Colonies, pas franchement jaunes et encore bleutées à la périphérie : Variétés lactose positives lent des *Escherichiae*.

**1.8. Gélose à sang frais et Gélose à sang cuit**

**Composition**

Formule en grammes par litre d'eau distillée :

- Pastlevone 20g
- Extrait de viande 2g
- Extrait de levure 4g
- Phosphate bipotassique 0,7g
- Phosphate monopotassique 8,3g
- Chlorure de sodium 2,5g
- Pastagar B 10g
- pH 7,6 ± 0,2 (**Lansing et al., 2007**).

**Utilisation :**

Après ensemencement les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 18 à 24h avant d'être examinées.

**1.9. Gélose Muller Hinton** Voir Annexe 03

**1.10. Gélose King A**

**Composition :**

Formule en grammes par litre d'eau distillée :

- Peptone tryptique de gélatine 20 g
- Sulfate de potassium anhydre 10 g
- Chlorure de magnésium anhydre 1,4 g
- Glycérol 10 ml
- Gélose 15 g
- Eau déionisée 1 000 ml. (**Rodier et al., 2009**).

**Préparation :**

Faire dissoudre dans l'eau les peptones et les sels en s'aidant de la chaleur. Ajouter le Glycérol.

Ajuster le pH à 7,2. Stériliser 20 minutes à 121 °C après répartition en tubes.

**Utilisation :**

Une recherche de la *pyocyanine*, pigment bleu, soluble dans le chloroforme caractéristique de *Pseudomonas aeruginosa*. Il est mis en évidence à partir des colonies développées sur ce milieu qui exalte sa production, à 30 °C, jusqu'à l'apparition d'une coloration verdâtre. Ajouter alors 2 ml de chloroforme. Agiter. La *pyocyanine* communique au chloroforme une teinte bleue.

## Annexe 03

## L'antibiogramme en milieu gélosé : méthode des disques.

## 1. Principe

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est ensemencée à la surface d'une gélose spécialement étudiée, la gélose de Mueller-Hinton, éventuellement additionnée de sang. Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice. Les caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne en seront déduits.

## 2. Technique

En pratique, on réalise à partir de l'isolement (souche pure) un ensemencement en tapis sur le milieu. On dispose ensuite les disques d'antibiotiques et on place à l'incubateur. Au bout de 24 h, on lit les différents diamètres d'inhibition et on peut conclure en comparant ceux-ci aux abaques de lecture.

## 3. Antibiotiques

**3.1.  $\beta$ -lactamines :** Les  $\beta$ -lactamines comprennent les pénicillines, les céphalosporines, et plus récemment deux carbapénèmes et le monobactame aztréonam. Elles ont une structure chimique commune correspondant à un mécanisme d'action commun : elles inhibent la biosynthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne, du fait de leur analogie structurale avec le dipeptide substrat d-Ala-d-Ala. Ce mécanisme étant spécifique des bactéries, les  $\beta$ -lactamines sont les antibiotiques les moins toxiques mais les plus allergisants.

Le facteur majeur de la résistance bactérienne aux  $\beta$ -lactamines est une enzyme  $\beta$ -lactamase qui ouvre le cycle caractéristique à 4 sommets par hydrolyse de la fonction amide interne

$-\text{CO}-\text{N}=\text{}$ . Les souches résistantes augmentent de façon préoccupante, la plupart par sélection, d'autres parce qu'elles ont une enzyme inductible, notamment par les céphalosporines.

- **Ampiciline (10 $\mu\text{g}$ ) :** est une aminopénicilline  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ , en tant que telle, un antibiotique à spectre large. Elle est capable

de pénétrer dans une bactérie à Gram-. Elle inhibe la troisième et dernière étape de la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, conduisant ainsi à la lyse cellulaire.

- **Amoxicilline + Ac. Clavulanique (10 $\mu\text{g}$ ) :** 1984

- **Ticarcilline (75 $\mu\text{g}$ ) :** 1981  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2$

- **Piperacilline (100 $\mu\text{g}$ ) :** 1980 est une acylurédopénicilline  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}$  relativement évoluée active contre plusieurs bacilles à Gram négatif. On l'emploie entre autres contre les entérobactéries, et en combinaison avec d'autres antibiotiques contre *Pseudomonas aeruginosa*

- **Cefoxitine + ceftazidime (30 $\mu\text{g}$ ) :** La céfoxitine inhibe la PLP, enzyme permettant la synthèse du peptidoglycane bactérien  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2$ .

- **Cefotaxime (30 $\mu\text{g}$ ) :** 1980 est un antibiotique bactéricide de synthèse de la classe des céphalosporines de troisième génération  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_2$ .

- **Imipenem (10 $\mu\text{g}$ ) :** 1993 Dérivé semi synthétique de la thiénamycine de formule brute  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$  produite par *Streptomyces cattleya*. L'imipénème étant inactivé par une enzyme rénale, on lui ajoute de la cilastatine sodique qui est un inhibiteur compétitif réversible de cette enzyme.

- **Aztréonam :** 1988 est un agent antibactérien de la classe des monobactames de formule brute  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_2$ . Il est le premier représentant des monobactames, qui appartiennent à la famille des  $\beta$ -lactamines. Cette classe d'antibiotiques est active contre les bactéries à gram négatif. L'aztréonam interfère avec la structure de la paroi des bactéries à gram négatif. La rupture de la paroi entraîne la lyse de la bactérie.

- **Ceftazidime :** 1986 un céphalosporine de la troisième génération.

**3.2. Aminocyclitolides :** Produits par divers Actinomycetes, agissent sur le ribosome bactérien (sous-unité 30S) en altérant la traduction de l'ARN messager et donc la

structure des protéines bactériennes, ce qui entraîne un effet bactéricide irréversible. Du fait de ce mécanisme plus général que celui des antibiotiques de la paroi, ce groupe a une toxicité moins sélective pour les bactéries et donc un index thérapeutique plus étroit.

- **Gentamicine (10µg)** : Agit en se liant à l'ARN ribosomique au site A du ribosome bactérien, qui est le site de décodage des codons de l'ARN messager. La fixation de la gentamicine augmente fortement le taux d'erreur de lecture par le ribosome, ce qui provoque la synthèse de protéines anormales, dont l'accumulation est létale pour la cellule.

- **Netilmicine (30µg)** : 1982

- **Tobramycine** : 1974 Le sulfate de tobramycine un antibiotique aminoside proche de la gentamicine de structure global  $C_{18}H_{37}N_5O_9$

- **Kanamycine** : 1957 Antibiotique isolé de *Streptomyces kanamyceticus*, actif sur les Gram + et Gram -, le bacille tuberculeux et les mycobactéries.

**3.3. Quinolones** : Inhibiteurs de la gyrase bactérienne indispensable à la réplication de l'ADN bactérien de structure générale  $C_9H_7N$ .

- **Acide nalidixique (30µg)** : 1968 de formule brute  $C_{12}H_{12}N_2O_3$  est un acide organique utilisé comme antiseptique et désinfectant.

**3.4. Fluoroquinolones** : Substances de synthèses dérivées de l'acide nalidixique.

- **Pefloxacin (5µg)**

1985 de structure  $C_{17}H_{20}FN_3O_3$

**3.5. Sulfamides** : 1957 Inhibiteurs de synthèse de l'acide tétrahydrofolique (vitamine

B9) précurseur indispensable pour la synthèse de l'ADN et donc la réplication bactérienne. La cellule va les reconnaître pour ce qu'ils ne sont pas et les intégrer dans son métabolisme, et parce que ce sont des molécules analogues, les voies métaboliques seront bloquées. Ceci provoque une inhibition de la synthèse des bases nucléiques et la cellule meurt par carence en bases nucléiques.

- **Triméthoprime+sulfaméthoxazole**

**(1,25/23,75µg)**  $C_{10}H_{11}N_3O_3S$ : 1982 associés à un autre médicament, le triméthoprime, qui agit contre la dihydrofolate réductase, une autre étape du métabolisme de la vitamine B9.

**3.6. Cyclines** : les cyclines atteignent les bactéries à la fois par diffusion passive et par un système de transport actif qui est absent des cellules humaines. Ils ont été découvertes également dans des bactéries Actinomycètes, et aussitôt reconnues actives contre des germes échappant jusqu'à l'antibiothérapie : rickettsies, chlamydiae, mycoplasmes. La tétracycline qui est la cycline de référence.

- **Tétracycline (30µg)**

1966  $C_{22}H_{24}N_2O_8$  empêche la fixation de l'aminocyl-ARNt entrant dans le site A du ribosome.

**3.7. Polymyxines** : Sont des antibiotiques polypeptidiques, actifs sur les bacilles à Gram - ciblent la membrane et non pas la paroi bactérienne.

- **Colistine (10µg)**

1959 un polypeptidique de la famille des polymyxines.

## Annexe 04

## Protocoles détaillés des normes utilisées dans les analyses physico-chimiques

**1. Pour les analyses de l'eau****1.1. Protocole de mesure de température**

La norme **NFT 90–100** est abandonnée et devient la norme relative aux méthodologies d'échantillonnage. La température de l'échantillon peut être mesurée moyennant la sonde de température qui fait partie des instruments de mesure de la conductivité (Instrument composé de deux électrodes de mesure de la conductivité et de la température.

**1.2. Protocole d'analyse de Détermination du pH****Principe**

Mesure de la différence de potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence plongeant dans une même solution.

**Réactifs :**

- Eau distillée ou déionisée fraîchement préparée.
- Solutions tampons étalon.
- Solution tampon A.

Dissoudre  $10,21 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$  d'hydrogénophthalate de potassium dans l'eau distillée. Compléter à 1 litre dans une fiole jaugée. Le pH est de 4,001 à 20°C.

- Solution tampon B (Tampon au phosphate).

Dissoudre  $3,402 \pm 0,001 \text{ g}$  de dihydrogénophosphate de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) et  $3,549 \pm 0,001 \text{ g}$  d'hydrogénophosphate de sodium ( $\text{Na HPO}_4$ ) dans l'eau distillée et compléter à 1 litre dans une fiole jaugée, le pH est de 6,881 à 20°C.

- Solution tampon C (Tampon au tétraborate de sodium).

Dissoudre  $3,81 \pm 0,001 \text{ g}$  de tétraborate de sodium ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) dans l'eau distillée et compléter à 1 litre dans une fiole jaugée. Protéger cette solution contre l'action de  $\text{CO}_2$  atmosphérique pendant sa conservation. Le pH est de 9,225 à 20°C.

**Appareillage**

- L'électrode de verre contient une solution tampon de pH connu.

Les électrodes de verre sont relativement fragiles et doivent être utilisées très propres ; les

conserver et les entretenir selon les recommandations du constructeur.

- Electrode de référence.
- Dispositif potentiométrique adapté à la mesure du pH.

**Mode opératoire**

Effectuer le réglage initial de l'appareil conformément aux instructions du fabricant : (Se conformer aux indications du fabricant de l'appareil).

Étalonner l'appareil au moyen de deux solutions tampon de pH connu et de préférence situées de part et d'autre du pH à mesurer. L'étalonnage doit se faire sur place juste avant la mesure.

L'étalonnage peut être réalisé à n'importe quelle température sous réserve que le pH des solutions tampons étalons soit connu à cette température.

**Mesurage des échantillons**

Dans le cas des échantillons peu tamponnés ou dans la composition est susceptible de se modifier au contact de l'air (eaux de condensation de chaudière), le pH doit être déterminé en minimisant les échanges avec l'air.

Effectuer la mesure de pH de l'échantillon sous agitation modérée.

La mesure de la température sera faite avant celle du pH de façon à faire la correction sur l'appareil.

**Expression Des Résultats**

Exprimer les résultats en unité de pH à 0,05 (unité près à la température de l'échantillon sans appliquer une correction de température.

Mentionner la valeur de cette température dans le rapport d'essai. Il est possible d'effectuer une correction de température si la révélation pH/Température est connue pour l'échantillon analysé, dans ce cas, le rapport d'essai précisera (pH corrigé à X°C).

**1.3. Protocole de mesure de la conductivité / Salinité / TDS**

**NF EN 27888/ISO 7888 Janvier 1994 (NF 90-031)**

**Principe**

Détermination directe à l'aide d'un instrument approprié de la conductivité électrique de solutions aqueuses. La conductivité électrique est

une mesure du courant conduit par les ions présents dans l'eau (phénomène conducteur de la deuxième espèce et dépend de la Concentration des ions, nature des ions, température et viscosité de la solution.

### Réactifs

Sauf indications différentes du constructeur, utiliser pour l'analyse uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

- Eau de préparation des solutions et des dilutions bidistillées ou déionisées dont la conductivité électrique à 25°C  $\gamma$  (25) doit être inférieure ou égale à 0,1 mS/m

- Chlorure de potassium (Solution étalon A c (kcl) = 0,1mole /l). Dissoudre 7,456 g de chlorure de potassium préalablement séché à 105°C durant 2 Heures et refroidi en dessiccateur, dans de l'eau distillée et diluée à 1000 ml. La conductivité électrique de cette solution à 25°C  $\gamma$  (25) est de 1290 mS/m.

- Chlorure de potassium (Solution étalon B c (kcl) = 0,01mole /l). Diluer 100 ml de la solution A à 1000ml avec de l'eau de distillée. La conductivité électrique de cette solution à 25°C  $\gamma$  (25) est de 141mS/m.

- Chlorure de potassium (Solution étalon C c (kcl) = 0,001mole /l). Diluer 100 ml de la solution B à 1000ml avec de l'eau distillée. La conductivité électrique de cette solution à 25°C  $\gamma$  (25) est de 14,7mS/m.

Cette solution doit être préparée juste avant son emploi et l'eau de dilution doit être exempte de dioxyde de carbone.

- Solution de Platinage: Pour les électrodes au platine celle-ci doivent être platinées: Dissoudre 1,5g d'acide hexa-chloroplatinique ( $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$ ) dans 50ml d'eau contenant 0.0125g d'acétate de plomb (II) [ $Pb(C_2H_3O_2)_2$ ].

- Instruments de mesure de la conductivité de l'un des types suivants :

- Instruments équipé d'une cellule de mesure de la conductivité de type à écoulement ou à immersion constituée de deux électrodes «de mesure de la conductivité et de la température» ou plusieurs électrodes.

Une cellule de type à écoulement exempte d'air est indispensable pour des mesurages de conductivité inférieure à 1mS/m.

-Instrument équipé d'électrodes du type à induction.

### Appareillage

- Certains instruments sont équipés d'un système de contrôle de la constante de la cellule de mesure, si ce n'est pas le cas, les mesures doivent être multipliées par la constante\*(se conformer aux instructions du constructeur).

- Electrodes : se conformer aux caractéristiques de l'appareil (électrodes platinées ou non platinées, les non platinées peuvent être utilisées pour des déterminations sur le terrain et de routine au laboratoire).

Thermomètre\* : se conformer aux instructions du constructeur, la température doit être précise à  $\pm 0,5^\circ C$ , certains appareils sont équipés d'une sonde de mesure de la température combinée à l'électrode de mesure de la conductivité.

### Mode opératoire

#### Constante de la cellule de mesure.

Préparer l'appareil selon les instructions du constructeur et s'assurer qu'il est équipé d'une cellule de mesure dont la constante est appropriée à la gamme de mesure.

Pour avoir une lecture directe de la conductivité électrique opter pour des conductivimètres équipés d'un dispositif de correction de la constante de la cellule.

Au cas où le conductivimètre n'est pas équipé du dispositif de correction de la constante de la cellule, la déterminer se fait en utilisant tous les réactifs et solutions étalons de chlorure de potassium appropriées à chaque gamme de mesure. Contrôler la constante de la cellule au moins une fois par semaine.

#### Correction de la température

Opter pour les instruments équipés d'un dispositif de compensation de la température

«Ces instruments peuvent automatiquement corriger les mesures obtenues pour une gamme de température en conductivité électrique à 25C ». De tels instruments doivent être étalonnés en suivant strictement les instructions du fabricant. Lorsque les instruments ne sont pas équipés de système de compensation de la température, la conductivité électrique mesurée  $\theta^\circ C$  doit être corrigée à 25°C en utilisant le

facteur de correction approprié indiquée dans le tableau :

**Tab. : Facteur de correction f**

C°	°C Dixième de degrés									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	1,490	1,488	1,483	1,479	1,477	1,468	1,464	1,459	1,455	1,449
6	1,445	1,440	1,436	1,432	1,428	1,424	1,418	1,414	1,410	1,404
7	1,400	1,396	1,392	1,388	1,385	1,379	1,375	1,371	1,368	1,362
8	1,358	1,353	1,349	1,347	1,342	1,340	1,335	1,331	1,328	1,324
9	1,319	1,316	1,312	1,308	1,305	1,300	1,297	1,293	1,288	1,285
10	1,282	1,279	1,277	1,273	1,269	1,265	1,261	1,257	1,254	1,250
11	1,246	1,244	1,242	1,239	1,234	1,231	1,227	1,224	1,219	1,216
12	1,213	1,210	1,207	1,204	1,202	1,199	1,194	1,191	1,189	1,184
13	1,182	1,180	1,176	1,173	1,169	1,166	1,164	1,160	1,157	1,154
14	1,152	1,149	1,146	1,144	1,141	1,138	1,135	1,132	1,129	1,127
15	1,123	1,121	1,118	1,116	1,112	1,109	1,107	1,103	1,101	1,099
16	1,096	1,094	1,091	1,088	1,086	1,084	1,081	1,078	1,075	1,073
17	1,070	1,069	1,067	1,064	1,061	1,059	1,056	1,053	1,050	1,048
18	1,046	1,044	1,043	1,039	1,037	1,035	1,033	1,029	1,027	1,025
19	1,023	1,022	1,019	1,016	1,014	1,012	1,010	1,008	1,004	1,002
20	1,000	0,999	0,996	0,994	0,992	0,990	0,988	0,985	0,983	0,981
21	0,979	0,977	0,975	0,973	0,970	0,969	0,967	0,965	0,962	0,960
22	0,958	0,956	0,954	0,952	0,950	0,947	0,946	0,943	0,941	0,940
23	0,938	0,937	0,934	0,933	0,931	0,929	0,926	0,926	0,923	0,921
24	0,919	0,918	0,916	0,915	0,912	0,910	0,908	0,907	0,905	0,902
25	0,902	0,899	0,897	0,896	0,893	0,891	0,889	0,888	0,885	0,885

### Expression des résultats

Le résultat doit être exprimé par  $\gamma$  (25) en milli-siemens par mètre ou autre unité (voir \*, la méthode de correction à 25°C doit être indiquée en plus de la température de mesure réelle.

Autre unité : conductivité électrique  $\gamma$  : inverse de la résistance exprimée en Siemens par mètre :  $1 \text{ S/m} = 10^6 \mu\text{S/m} = 10^3 \text{ mS/m}$ .

#### 1.4. Protocole de mesure d'Oxygène dissous

La norme **NF-EN 25814** qui vient remplacer la norme **NFT 90- 106**, méthode valable surtout pour les mesures du terrain.

**Produits chimiques** Sulfate manganéux, NaOH (ou KOH), Iodure de sodium (NaI) ou de potassium (NaK), Azoture de Na ( $\text{NaN}_3$ ), Acide sulfurique concentré ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), Amidon, Thiosulfate de sodium NaS.

#### 1.5. Protocole de mesure des MES

Quelle que soit la méthode utilisée pour déterminer la matière en suspension : Norme **NF-EN 872** (Méthode par filtration sur filtre en fibre de verre), ou **NF T 90 105-2** (méthode selon la

norme Séparation des matières en suspension par centrifugation) ; il est nécessaire pour obtenir une reproductivité satisfaisante de respecter les conditions opératoires. D'une façon générale, les matières grossières en suspension doivent être préalablement éliminées par passage sur un tamis à mailles carrées de 5mm de côté.

**NORME : NF- EN 872 méthodes par filtration sur filtre en fibre de verre.**

#### Appareillage

- Matériels courant du laboratoire.
- Ensemble de filtration sous vide : Pompe à vide à membrane de volume 13litres/mn avec une pression du vide à l'intérieur <1mb de l'ordre (0,065 mb), puissance 0,2KW et une entrée tube 8mm.
- Entonnoir de 300ml avec support de filtre.  $\varnothing = 47\text{mm}$  et pince de fixation,
- Fioles 1000ml,
- Disque filtrant en fibre de verre ou autre papiers filtres MES à  $0,45\mu\text{m}$ . (Parmi ceux qui conviennent Sartorius, Wattmann, millipore),
- Etuve  $105^\circ\text{C}$ .

- Balance de précision du laboratoire  $\pm 0,1\text{mg/l}$ .
- Un dessiccateur.

#### Mode opératoire

- Sécher les papiers filtres MES dans une étuve à  $105 \pm 2^\circ\text{C}$  jusqu'à une masse constante, laisser refroidir en dessiccateur et peser à  $0,1\text{ mg}$  près.

-Placer le filtre dans l'équipement de filtration et mettre en marche le dispositif d'aspiration.

- Verser progressivement l'échantillon sur le filtre jusqu'à ce que le dispositif soit vidé.

Le volume vidé doit être d'au moins  $100\text{ml}$  et permettant d'obtenir au moins une masse de  $1\text{mg}$  par  $\text{cm}^2$  de surface filtrante .Toutefois dans le cas ou celle ci peut ne pas être satisfaite le volume de l'échantillon doit être augmenté à au moins  $500\text{ml}$ .

- Rincer le récipient ayant contenu l'échantillon avec  $10\text{ml}$  environ d'eau distillée et faire passer les eaux de lavage sur le filtre.

- Laisser essorer et sécher le filtre à  $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ . Laisser refroidir en dessiccateur et peser à  $0,1\text{ mg}$  près si le résidu est inférieur à  $20\text{ mg}$ , ou à  $0,5$  près si le résidu est supérieur à  $20\text{mg}$ . Recommencer les opérations de séchage, de refroidissement et de pesées jusqu'à ce que la différence entre deux pesées successives n'excède pas  $0,1$  ou  $0,5\text{mg}$ .

#### Expression des résultats

$$\text{Le taux de MES mg/l} = (M_1 - M_0) * 1000 / V$$

V = le volume en millilitres d'échantillon mis en jeu (ce volume est déterminé soit à l'aide d'un récipient jaugé soit par pesée).

$M_0$  = La masse en mg du disque filtrant avant utilisation.

$M_1$  = La masse en mg du disque filtrant après utilisation.

#### *NF T 90 105 – 2 déterminations par centrifugation et séchage à $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ .*

Au cas où la méthode NF- EN 872 Méthode par filtration sur filtre en fibre de verre ne s'applique pour des raisons de la qualité de l'échantillon et du colmatage du papier filtre ou lorsque la qualité de l'échantillon est très chargée en matière en suspension (la durée de la filtration dépasse  $30\text{mn}$ , l'utilisation de la méthode par centrifugation est recommandée

#### Appareillage

- Matériels courant de laboratoire.

- Centrifugeuse conduisant à une accélération de  $28000$  à  $32\ 000\text{ m.s}^{-2}$

- Etuve  $105^\circ\text{C}$ .

- Balance de précision du laboratoire  $\pm 0,1\text{mg/l}$ . (voir Chapitre: Partie II /Equipements du laboratoire en matériels d'analyses courant du laboratoire)

- Un dessiccateur.

#### Mode opératoire

Si cela est possible introduire la totalité de l'échantillon dans le pot de la centrifugeuse et centrifuger durant  $20\text{ mn}$  ; le volume de cet échantillon doit être tel qu'il conduise à la pesée d'au moins  $30\text{ mg}$  de matière en suspension.

Si la totalité de l'échantillon ne peut trouver place dans le pot de la centrifugeuse, opérer en plusieurs fois en décantant après  $20\text{ mn}$  de centrifugation le liquide surmontant le culot au fond du pot jusqu'à ce que tout l'échantillon ait été centrifugé.

Décanter, remettre en suspension le culot dans de l'eau distillée (en remplissant le pot jusqu'au niveau initial) et centrifuger  $20\text{mn}$ .

Recueillir le culot déposé dans une capsule préalablement séchée et son contenu à  $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  jusqu'à une masse constante refroidie dans un dessiccateur et pesée à  $0,1\text{mg}$  près.

Rincer le pot de centrifugeuse deux fois avec chaque fois  $20\text{ml}$  d'eau distillée et recueillir les eaux d'entraînement dans la capsule.

Sécher ensuite la capsule et son contenu à  $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ . Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser à  $0,5\text{ mg}$  près.

Recommencer les opérations de séchage, de refroidissement et de pesée jusqu'à ce que la différence obtenue dans deux pesées successives n'excède pas  $0,5\text{mg}$ .

#### Expression des résultats

V : Le volume en millilitre de P.E.

$M_0$  : La masse en milligrammes de la capsule vide.

$M_1$  : La masse en milligrammes de la capsule et de son contenu après séchage à  $105^\circ\text{C}$ .

Le taux de matière en suspension exprimé en  $\text{mg/l}$  est donné par l'expression :

$$(M_1 - M_0) * 1000 / V$$

#### 1.6. Protocole de mesure de la DCO

Selon la norme : **NF T-90-101 2001**

**Principe**

Oxydation en milieu acide par un excès de dichromates de Potassium à la température 148°C des matières oxydables dans les conditions de l'essai en présence de sulfate d'argent (AgSO<sub>4</sub>) et sulfate de mercure (Hg SO<sub>4</sub>).

Détermination de l'excès de dichromate à l'aide d'une solution titrée de sulfate de Fer II et d'ammonium en présence de la solution d'indicateur «Ferroïne» ou par un système potentiométrique.

Calcul de la DCO à partir de la quantité de dichromate de potassium réduite.

**Produits chimiques**

- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> M = 98,08 g/ mol W = 95 à 97 = 1,84 g / ml

- Ag SO<sub>4</sub> (p.a)

- Ag SO<sub>4</sub> en solution : 10g dans 1litre d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : Dissoudre 10g de sulfate d'argent dans 35ml d'eau distillée en ajoutant par étape 965ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré (1,84g/ml)

\*La solution doit être préparée au moins un jour avant l'utilisation, et doit être stockée dans une bouteille en verre brun.

- Ammonium fer (II) sulfate hexahydraté (p.a) (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O M = 392,14 g/mol (sel Mohr) 0,12 mol/l : Dissoudre 47g de sulfate de fer (II) et d'ammonium hydraté dans de l'eau distillée, ajouter 20ml d'acide sulfurique (1,83), refroidir et diluer à 1000ml. Cette solution doit être étalonnée journallement avec la détermination de la DCO de la manière suivante :

- Diluer 5,0ml de la solution étalon de dichromate de potassium: 0,040 mole/l contenant de sulfate de mercure II à environ 100ml avec de l'acide sulfurique à 4mole/l .Titrer avec la solution de sulfate de fer II et d'ammonium (0,12) en présence de 2 à 3 gouttes de la solution d'indicateur «Ferroïne».

La concentration (C) exprimée en mole/l de la solution de sulfate de fer II et d'ammonium est donnée par la formule :

$$C = 5,0 * 0,040 * 6 / V = 1,2 / V$$

Où

V : est le volume en ml de la solution de sulfate de fer II et d'ammonium consommé.

- Sulfate de mercure (II) HgSO<sub>4</sub> en poudre.

- Dichromates de potassium (p.a) c (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) M = 294,19g/mole = à 0,040 mole/l contenant de sulfate de mercure II) : Dissoudre 80g de sulfate de mercure II dans 800ml d'eau. Ajouter avec précaution 100ml d'acide sulfurique (1,84). Laisser refroidir et ajouter 11,767g de dichromate de potassium préalablement séché à 105°C pendant 2h. Transvaser la solution quantitativement dans une fiole jaugée de 1000ml. La solution est stable pour un mois.

- Sels tétrasodique de l'acide tétra sulfurique phtalocyanine de cuivre II (Solution de référence à 0,00666g/l) : Dissoudre 0,666g de sel tétrasulfonique – phtalocyanine de cuivre II dans de l'eau et compléter à 100ml dans une fiole jaugée. Diluer la solution obtenue au 1/10 avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée. Cette dernière solution a une valeur de DCO de 100 mgO<sub>2</sub> /l. Elle reste stable au moins 3 mois si elle est conservée à la température de 5± 3°C.

- Ferroïne (Solution d'indicateur) : Dissoudre 0,7g de sulfate de fer II (Fe SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) dans de l'eau. Ajouter 1,5g de phénanthroline-1,10 chlorhydraté monohydraté C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>ClN<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O M = 234,69g /mol et agiter jusqu'à dissolution. Diluer à 100ml.

- Granules régulateurs d'ébullition.

**Appareillages**

- Matériels courant de laboratoire

- Appareils à reflux constitué d'une fiole, d'un tube ou d'un ballon à fond plat de 250ml environ surmonté d'un réfrigérant adaptable et dimensionné de façon à éviter toute perte significative de matériaux volatils. Si nécessaire nettoyer l'appareil par ébullition à reflux de mélanges fraîchement préparés de 5ml de solution de bichromate de potassium de 14 ml de solution d'acide sulfurique avec du sulfate d'argent et de 10ml d'eau distillée. Il est recommandé de réserver cet appareillage à la seule détermination de la DCO.

- Manchon chauffant, plaque chauffante ou tout autre équipement équivalent permettant de porter le mélange d'essai à ébullition à reflux en moins en 2mn. S'assurer que le dispositif utilisé ne provoque pas de surchauffe locale.

- Burette de précision ou dispositif équivalent de capacité de 25ml.

- Système de mesure potentiométrique composé d'une électrode adaptée (par exemple en or, en platine), d'une électrode de référence adaptée et d'un millivoltmètre permettant de mesurer une différence de potentiel à 0,1mV (gamme - 1000mV à +1000mV).

### Mode opératoire

- **Essai à blanc** : Effectuer un essai à blanc parallèlement à la détermination en suivant le même mode opératoire que pour l'essai relatif à l'échantillon mais en remplaçant la P.E. par 10ml d'eau distillée ou de pureté équivalente. La consommation de la solution de dichromate de potassium lors de l'essai à blanc doit être le plus faible que possible et ne doit pas excéder 0,5ml. Dans le cas contraire il convient de rechercher l'origine de cette valeur et d'y remédier notamment en utilisant d'autres réactifs et en vérifiant la propreté de la verrerie.

- **Essai Témoin** : Vérifier régulièrement la technique opératoire, de même que la propreté de la verrerie par analyse de 10ml de la solution opératoire en suivant le même mode opératoire que pour la P.E. La demande chimique en oxygène théorique de cette solution est de 100mgO<sub>2</sub>/l. Le procédé expérimental est satisfaisant et on obtient une valeur de 100mg/l ± 18 mg/l

### -Détermination

-Ajouter 5,0ml de la solution de dichromate de potassium et quelques granules régulateurs d'ébullition à la P.E. et homogénéiser soigneusement.

- Ajouter, lentement et avec précaution 15ml d'acide sulfurique en agitant soigneusement la fiole d'un mouvement circulaire et en la refroidissant sous l'eau courante froide ou dans un bain de glace fondante de façon à limiter les pertes de substances organiques volatiles.

- Relier le réfrigérant à la fiole et porter à ébullition à reflux pendant 2h. Le mélange réactionnel doit bouillir doucement sans soubresauts. Des soubresauts indiquent une surchauffe locale de la solution, ce qui peut conduire à des résultats erronés, ils peuvent être dus à un chauffage trop intense ou à des granules régulateurs inefficaces.

- Laisser refroidir et laver la paroi interne du réfrigérant à l'eau distillée en recueillant les eaux de lavage dans la fiole. Débrancher le réfrigérant de la fiole, compléter à environ 75 ml avec de l'eau et refroidir à température ambiante.

- Titrer l'excès de dichromate avec la solution de sulfate II de fer et d'ammonium en présence d'un ou de deux gouttes d'indicateur à la ferroïne ou par un système de mesure potentiométrique. Bien que la quantité ne soit critique, elle doit demeurer aussi constante que possible, noter comme point de virage le changement brusque de couleur du bleu vert au bleu rouge, même si le bleu vert réapparaît au bout de quelques minutes ;

- Titrer le volume de la solution de sulfate de fer II et d'ammonium nécessaire au titrage de l'excès de dichromate par la méthode potentiométrique d'un graphe ou sont portés en abscisse le volume de la solution de fer II et d'ammonium et en ordonné le potentiel d'oxydoréduction.

$$DCO = 8000 * c (V1 - V2) / V0$$

Où

c = Concentration exprimée en moles par litre de la solution de sulfates de fer II et d'ammonium calculée selon :  $C = 5,0 * 0,040 * 6 / V = 1,2 / V$

V<sub>0</sub> : est le volume en ml de la P.E. avant dilution éventuelle.

V<sub>1</sub> : est le volume en ml de la solution de sulfate de fer II et d'ammonium utilisé pour l'essai à blanc.

V<sub>2</sub> : est le volume en ml de la solution de sulfate de fer II et d'ammonium utilisé pour la détermination de l'échantillon.

Exprimer le résultat le plus proche possible.

### 1.7. Protocole de mesure de la DBO<sub>n</sub>

La méthode donnée NF EN 1899-1 1998 remplace la norme NFT 90-103 (1975)

Il s'agit de la méthode de mesure avec dilution, c'est la méthode qui convient puisqu'il s'agit d'analyser des eaux usées brutes et traitées.

### Principe :

Les mesures sont réalisées à partir d'échantillons d'eau prélevés sur le terrain. Deux prélèvements sont nécessaires :

- le premier sert à la mesure de la concentration initiale en O<sub>2</sub>.

- le second à la mesure de la concentration résiduaire en O<sub>2</sub> au bout de 5 jours.

La  $DBO_5$  est la différence entre ces deux concentrations. Les mesures seront effectuées sur un même volume et le second échantillon sera conservé 5 jours à l'obscurité et à 20°C.

Afin de mesurer la totalité de la demande biologique en oxygène, l' $O_2$  ne doit pas devenir un facteur limitant de l'activité microbienne. En effet une eau abandonnée à elle même dans un flacon fermé consommera rapidement l'oxygène dissous : il faut donc s'assurer au préalable que cet oxygène suffira largement à la consommation des micro-organismes.

### Produits chimiques

1 - Potassium hydrogenophosphate anhydre ( $K_2HPO_4$ )	M = 174,18 g / mol.
2 - Di- Sodium hydrogénophosphate ( $Na_2HPO_4$ )	M = 141,96 g / mol.
3 - Potassium hydrogéphosphate ( $KH_2PO_4$ )	M = 136,09 g / mol.
4 - Ammonium chlorure ( $NH_4Cl$ )	M = 53,49 g / mol.
5 - Magnésium sulfate hypt-hydraté $Mg SO_4.7H_2O$	M = 246,48 g / mol.
6 - Calcium Chlorure ( $CaCl_2$ )	M = 110,99 g / mol.
7 - Fer Chlorure hexahydraté $FeCl_3 .6H_2O$	M = 270,30 g / mol.
8 - Acide Chlorhydrique ou Acide sulfurique.	
9 - Hydroxyde de sodium NaOH.	
10 - Sulfite de sodium ( $Na_2SO_3$ ).	
11 - Acide glutamique – glucose.	
12 - Allyl Thio-Urée (ATU).	

### Appareillages

- a - Matériels de réfrigération 0 à 4°C.
- b - Flacons d'incubation : Flacons à  $DBO_5$  de 250 ml à col rodé pour réaliser les dilutions et le blanc.
- c - Récipient pour l'eau de dilution.
- d - Incubateur à 20°C ±1°C.
- e - Récipients pour dilution : Flacons en verre avec bouchon gradué à intervalle de 2,5 ml à 10ml dont la capacité dépend du volume de l'échantillon dilué ou tout récipient approprié permettant une dilution convenable.
- f - Equipement pour l'aération, une bouteille d'air sous pression ou un compresseur.
- g - Appareillage pour la détermination de la concentration en oxygène dissous selon la norme **EN 25813** / Méthode Iodométrique ou **EN 25814** / Méthode Electrochimique.

### Préparation des solutions;

- Préparation de l'eau de dilution.

#### a- Solutions phosphatées

Dissoudre séparément dans l'eau distillée:

On utilise pour cela la méthode des dilutions, ou l'échantillon à doser est dilué dans une quantité d'eau telle qu'à l'issue de la mesure, le taux d' $O_2$  reste supérieur à 50% du taux initial.

Le choix du bon facteur de dilution n'est pas évident (il est réalisé au laboratoire d'analyses par tâtonnement à partir de la mesure de la DCO).

#### Réactifs :

#### Eaux d'ensemencement.

- Eau distillée et eau d'ensemencement : Eau résiduaire urbaine fraîche et filtrée.
- Eau de rivière.

-33,4 g de monohydrogénophosphate de disodium heptahydraté ( $Na_2HPO_4.7H_2O$ ).

- 8,5 g de dihydrogénophosphate de potassium ( $KH_2PO_4$ ).

- 21,75 g d'hydrogénophosphate de dipotassium ( $K_2HPO_4$ ).

- 1,7 g de chlorure d'ammonium, ( $NH_4Cl$ ) dans environ 500ml puis diluer à 1000ml. Il convient que la valeur du pH soit de 7,2 sans ajustement ultérieur.

**b- Solutions salines** : Conservation pendant 6mois à 0-6°C

-22,5 g de sulfate de magnésium hepta-hydraté ( $MgSO_4.7H_2O$ ) → 1 litre

- 27,5 g de chlorure de calcium, ( $CaCl_2$ ) ou

- 36,4g de chlorure de calcium hydraté ( $CaCl_2.H_2O$ ) → 1 litre

-0,25 g de chlorure de Fer III hexhydraté, ( $FeCl_3.6H_2O$ ) → 1 litre

#### c- Eau de dilution.

Pour chaque litre de solution à préparer à partir de l'eau distillée, ajouter 1ml de chaque solution ainsi préparée.

Amener et maintenir la solution obtenue à  $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et la maintenir à cette température, aérer pendant au moins 1h à l'aide d'un équipement approprié, en prenant toutes les précautions utiles pour ne pas la contaminer notamment par l'addition de matière organique, de matière oxydante ou réductrice, ou de métaux jusqu'à ce qu'elle contienne au moins 8 mg/l d'oxygène dissous appréciés par dosage.

L'eau ne doit pas être sursaturée en oxygène. La laisser ensuite en repos pendant 1h dans un récipient débouché avant utilisation. Utiliser cette eau dans les 24 h suivant la préparation, à moins que l'expérience du laboratoire montre que l'eau peut être utilisée pendant une période plus longue.

#### **d- Eau de dilutionensemencée**

Préparer l'eau de dilution à partir de cette solution, en ajoutant selon son origine 5 à 20 ml d'eau d'ensemencement par litre d'eau de dilution préparée. L'eau de dilution ainsi obtenue doit être conservée à  $20^{\circ}\text{C}$  et utilisée dans la journée, à moins que l'expérience du laboratoire montre que l'eau peut être utilisée pendant une période plus longue.

La consommation en oxygène de l'eau de dilutionensemencée à une température de  $20^{\circ}\text{C}$  pendant une durée de n jours et qui représente la valeur du blanc ne doit pas dépasser 1,5 mg/l d'oxygène.

**e- Solution d'acide chlorhydrique ou d'acide sulfurique :**  $\text{H}_2\text{SO}_4$  : 0,25 mol/l,  $\text{HCl}$  : 0,5 mol/l.

**f- Solution d'hydroxyde de sodium NaOH :**  $\text{NaOH}$  : 20g/l

**g- Solution de sulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ):**  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  : 50g/l

**h- Solution d'Acide glutamique-glucose** (solution de contrôle)

- Sécher du D-glucose anhydre  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  et de l'acide L-Glutamique  $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$  pendant 1h à ( $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

- Peser ( $150 \pm 1\text{mg}$ ) de chacune des substances et les dissoudre dans de l'eau.

- Diluer à 1000ml.

La demande théorique en oxygène de cette solution est de  $307\text{mg O}_2/\text{l}$  ; la  $\text{DBO}_5$  empirique est de  $210 \pm 20\text{mg O}_2/\text{l}$  et la  $\text{DBO}_7$  est de  $225\text{mg O}_2/\text{l} \pm 20\text{mg O}_2/\text{l}$ .

Cette solution doit être juste préparée avant utilisation et jetée à la fin d'une journée de travail.

La solution peut être conservée par congélation en petites quantités. La solution décongelée doit être utilisée aussitôt après décongélation.

#### **i- Allyle Thio-Urée (ATU)**

##### **Solution à 1g/l**

- Dissoudre 200mg/l d'allyle thio-urée  $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{S}$  dans l'eau distillée.

- Diluer à 200ml et mélanger.

Conserver la solution à  $4^{\circ}\text{C}$ . La solution est stable pendant deux semaines. Ce composé est dangereux et il convient de le manipuler par conséquent avec précaution.

#### **Mode Opérateur**

##### **Echantillonnage et conservation**

Dans le cas d'eau résiduaire fortement polluée, on fait une dilution avec de l'eau de dilution saturée en oxygène à un degré qu'après la durée d'incubation et de consommation, il reste au moins deux mg d'oxygène par litre d'eau.

Il est conseillé de déterminer la  $\text{DBO}_5$  immédiatement après prélèvement (3h après prélèvement).

##### **La température**

Elle doit être constante tout au long de l'analyse ; le moindre écart de température donne des valeurs en  $\text{DBO}$  inférieures à la valeur réelle. Si l'échantillon est à température supérieure ou inférieure à  $20^{\circ}\text{C}$ , le placer un moment dans l'armoire à  $\text{DBO}$  et mesurer sa température.

##### **Neutralisation de l'échantillon**

La valeur du pH doit être comprise entre 6,0 et 8,0. Au besoin, ajuster le pH à l'aide de  $\text{NaOH}$  0,5N ou  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0,5M) si les échantillons à analyser sont oxydables en composés acides ou basiques.

Prendre deux flacons spéciaux. Verser dans chacun successivement un volume V de l'effluent mesuré à la pipette, puis un volume d'acide sulfurique à 0,5N ou d'hydroxyde de sodium 0,5N mesuré à la pipette graduée. Remplir les flacons avec juste ce qu'il faut d'eau de dilution pour que le bouchon puisse être enfoncé sans laisser de trace d'air résiduel.

**Présence de Chlore libre et/ou de chlore combiné (chloramine)**

Éliminer le Chlore libre ou combiné présent dans l'échantillon en ajoutant le volume nécessaire de solution de sulfite de sodium. Veillez à ne pas utiliser en excès.

Si l'effluent est chloré avant rejet, l'échantillon sera prélevé avant chloration. Si cela est impossible ou si l'on se trouve en présence de fortes concentrations de chlore résiduel (0,1mg/l), laissé reposer l'eau brute tamisée pendant 1 à 2h, ou bien jusqu'à ce que le chlore résiduel soit dissipé. On peut neutraliser les quantités excessives de chlore résiduel en ajoutant exactement la concentration nécessaire de sulfite de sodium.

### La nitrification

Elle intervient en général tardivement sur les analyses (sauf cas particulier) et démarre dès la 4<sup>ème</sup> ou le 5<sup>ème</sup> jour. La libération d'azote vient alors fausser les lectures.

Dans ce cas la courbe est anormale et dévie vers des valeurs supérieures. La nitrification peut être bloquée à l'aide d'inhibiteurs. L'influence de celle-ci peut être mesurée dans un flacon témoin et un flacon avec inhibiteur Allyle Thio-Urée (ATU).

### Cas particuliers

Lorsque l'eau à analyser a un pH élevé ou faible ou qu'elle est pauvre en éléments nutritifs, il est nécessaire d'utiliser au lieu d'eau distillée une eau enrichie en éléments minéraux.

L'eau de dilution ne doit pas contenir ni chlore, ni chloramine, ni acide, et avoir une teneur en Cuivre inférieure à 0,01 mg/l. L'eau de dilution doit être agitée dans un récipient non hermétique pour permettre une oxygénation de celle-ci par agitation. La température de l'eau de dilution devra être stabilisée à 20°C (l'entreposer quelques heures dans l'armoire à DBO).

### Préparation des solutions d'essai

Porter l'échantillon ou l'échantillon prétraité à une température de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Verser un volume défini de l'échantillon prétraité dans le récipient de dilution ajouter 2ml d'allyle thio-urée par litre d'échantillon dilué et remplir jusqu'au trait avec de l'eau de dilutionensemencée.

Si le facteur de dilution est supérieur à 100 procéder à une dilution en série en deux étapes au

plus. Mélanger doucement afin d'éviter de piéger des bulles d'air.

Il convient que le taux de dilution soit tel qu'après incubation l'oxygène soit entre 1/3 et 2/3 de la concentration initiale.

Réaliser un essai à blanc en parallèle à l'analyse de l'échantillon en utilisant de l'eau de dilutionensemencée et 2ml de solution ATU.

### Détermination de l'oxygène dissous selon la norme EN25813 Méthode iodométrique ou selon la norme EN25814, méthode électrochimique

- Remplir deux flacons d'incubation jusqu'au bord avec chaque dilution en laissant déborder.

- Durant les opérations de remplissage des précautions doivent être prises pour éviter une modification de la teneur en oxygène du milieu.

- Éliminer les bulles d'air adhérant aux parois, boucher les flacons en prenant soin de ne pas emprisonner des bulles d'air.

- Répartir les flacons en deux séries chacune comprenant un flacon de chaque dilution et un flacon de solution blanc.

- Placer les flacons de la première série contenant des solutions d'essais diluées dans l'incubateur et laisser n jours  $\pm$  4h.

- Dans la seconde série de flacons contenant les échantillons dilués mesurer l'oxygène dissous au temps zéro en utilisant la méthode indiquée dans **EN 25813**.

- Boucher les flacons en prenant soin de ne pas emprisonner des bulles d'air. Placer les flacons contenant les solutions d'essais dans l'incubateur et laisser à l'obscurité n jours  $\pm$  4h.

Après incubation, mesurer la concentration en oxygène dissous dans chacun des flacons en utilisant la méthode **EN 25814** Méthode électrochimique.

De même manière il sera procédé à deux autres mélanges correspondant à des dilutions différentes en vue d'obtenir un essai avec consommation d'oxygène comprise entre 40 et 60 % de la teneur initiale.

Il est nécessaire dans de nombreux cas d'effectuer les mesures à des dilutions très importantes susceptibles d'inhiber les effets bactériostatiques ou bactéricide de certains constituants des effluents si l'on veut avoir une estimation

correcte des phénomènes de bio-oxydation susceptibles de se manifester dans le cours d'eau. Si des dilutions croissantes montraient ainsi des valeurs croissantes de la DBO, les dilutions devraient être poussées jusqu'à ce que l'on obtienne un palier maximum en DBO.

Les volumes d'effluent les plus communément introduits dans les flacons spéciaux sont :

0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 - 20 - 50 - et 100 ml  
Le taux de dilution sera le volume du flacon bouché, divisé par ce volume introduit.

Contrôler l'eau de dilutionensemencée, l'eau d'ensemencement et la technique d'analyse effectuée, un contrôle pour chaque série d'échantillons en versant 20 ml de la solution de

### Calcul et expression des résultats

N.B. : La DBO<sub>n</sub> est calculée pour les solutions d'essais lorsque ces conditions sont satisfaites.

$$C_1 / C_2 \leq (C_1 - C_2) \leq 2C_1 / 3$$

Où

$C_1$  : est la concentration d'oxygène dissous dans une des solutions d'essais au temps zéro en mg/l.

$C_2$  : est la concentration d'oxygène dissous de cette même solution d'essai après n jours en mg/l.

$$\text{La DBO}_n = [(C_1 - C_2) - (V_t - V_e / V_t) * (C_3 - C_4)] * V_t / V_e$$

Où

$C_3$  : est la concentration en oxygène dissous de la solution du blanc au temps zéro en mg/l.

$C_4$  : est la concentration en oxygène dissous de la solution du blanc après n jours en mgO<sub>2</sub>/l.

$V_e$  : Volume d'échantillon utilisé pour la préparation de la solution d'essai concerné en ml.

$V_t$  : est le volume total de cette solution d'essai en ml.

### I/ Oxygène dissous : Méthode iodométrique EN 25813 / ISO 5813

#### Principe

Elle prescrit une méthode volumétrique fondée sur les propriétés oxydantes de l'oxygène dissous (procédé dit de Winkler modifié): Fixation, par MnSO<sub>4</sub> (ou le chlorure manganéux) de l'oxygène dissous dans l'eau sous forme de Mn(OH)<sub>3</sub> et libération, par le réactif de Winkler (KI+KOH) ou (KI+NaOH), d'iode en quantité proportionnelle à celle d'O<sub>2</sub> dissous.

Dosage de l'iode libéré, par le thiosulfate, en présence d'un indicateur coloré, l'amidon (la

contrôle (acide glutamique glucole) dans le récipient de dilution en ajoutant 2ml de solution ATU et en complétant à 1000ml avec de l'eau de dilution et procéder à l'analyse. La valeur de la DBO<sub>n</sub> est de 210 ± 20 pour la DBO<sub>5</sub> et 225 ± 20 mgO<sub>2</sub>/l pour la DBO<sub>7</sub>.

L'essai à blanc ne doit pas dépasser 1,5 mgO<sub>2</sub>/l.

#### Essai témoin

Doser l'oxygène dissous dans l'eau de dilution ; que celle-ci soit préparée avec de l'eau distillée et de l'eau d'ensemencement ou soit constituée par l'eau de rivière et remplir deux fioles avec cette eau. Placer les fioles dans l'enceinte réglée à 20±1°C pendant cent vingt heures puis doser l'oxygène dissous qui subsiste dans les fioles.

coloration bleue de l'amidon en présence d'iode disparaît au virage).

#### Produits chimiques

- Sulfate manganéux anhydre ou monohydraté (ou le chlorure manganéux),
- Na OH (ou KOH),
- Iodure de Na (NaI) ou (iodure de potassium KI),
- Azide de Na (NaN<sub>3</sub>): Nitrure de sodium,
- Acide sulfurique concentré et au cas du besoin acide phosphorique,
- Iodate de potassium (KIO<sub>3</sub>),
- Amidon,
- Thiosulfate de Na,
- Phénolphtaléine,
- Iode.

#### Appareillage

- Verrerie courante du laboratoire.
- Fioles en verre à goulot étroit de 130 à 350 ml de capacité jaugées à 1ml munie de bouchons (Flacons winkler, ou tout autre fiole adéquate de préférences à épaulement droits). Chaque fiole et son bouchon doivent porter le même numéro.

#### Réactifs

- solution d'acide sulfurique : Avec précaution, ajouter 500ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré (1,84g/ml) à 500ml d'eau distillée et mélanger. Si la présence de fer trivalent est à craindre, utiliser de l'acide phosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) (1,7g/ml).
- Acide sulfurique : Solution, (1/2 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) = 2mol/l

- Réactifs aux iodures alcalins et à l'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ): Dissoudre 35g de NaOH (ou 50g de KOH) et 27g d'iodure de NaI ou (30g d'iodure de potassium KI) dans environ 50ml d'eau distillée. (On peut employer indifféremment des sels de K ou de Na). Le réactif ne doit pas se colorer en présence de solution d'amidon lorsqu'on le dilue ou on l'acidifie.

Dissoudre séparément 1g d'azide de Na( $\text{NaN}_3$ ) dans quelques ml d'eau distillée. Mélanger ces deux solutions et diluer à 100ml. Conserver la solution obtenue dans un flacon en verre brun bouché.

Ce réactif ne doit pas après dilution et acidification produire de coloration en présence de la solution d'indicateur (empois d'amidon).

- solution de sulfate de manganèse II : Dissoudre 380g de sulfate de manganèse monohydraté ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) ou 340g de sulfate de manganèse anhydre dans de l'eau distillée, et compléter le volume à 1l.

En variante utiliser une solution de chlorure de manganèse II tétrahydraté à 450g/l.

Filtrer les solutions qui ne sont pas claires.

-Iodate de potassium : Solution étalon c 1/6  $\text{KIO}_3$  = 10 mmole/l. Sécher quelques grammes d'iodate de potassium  $\text{KIO}_3$ , à 180 °C. Peser 3,567±0,003 et les dissoudre dans de l'eau. Diluer à 1000ml.

Prélever 100ml et diluer avec de l'eau à 1000ml dans une fiole jaugée.

- Solution de base de thiosulfate de Na : 10 mmole /l : Dissoudre 2,5g de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dans  $\text{H}_2\text{O}$  distillée récemment bouillie et refroidie. Ajouter 0,4g d'hydroxyde de sodium NaOH et diluer à 1000ml. Conserver la solution dans un flacon brun.

Etalonnage de la solution : Dissoudre dans une fiole conique environ 0,5 g d'iodure de potassium (KI) ou d'iodure de sodium(NaI) dans 100ml à 150ml d'eau. Ajouter 5ml de la solution d'acide sulfurique (2mole/l).

Mélanger et ajouter 20ml de la solution étalon d'iodate de potassium (10 mmole/l = c1/6 $\text{KIO}_3$ ). Diluer dans environ 200ml et titrer immédiatement l'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium en ajoutant de la solution d'indicateur (Empois d'amidon fraîchement préparée).

Vers la fin du titrage quand la coloration devient pale on titre jusqu'à une décoloration complète. La concentration c exprimée en millimole par litre est donnée :

$$C = 6 \cdot 20 \cdot 1,66 / V$$

Où

V : est le volume en millilitre de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour le titrage (Effectuer un titrage chaque jour).

- Solution d'amidon : Solution à 10g/l fraîchement préparée

- Phénolphthaleine : solution éthanolique à 1g/l.

- Iode : Solution à environ 0,005 mol/l. Dissoudre 4 à 5g d'iodure de potassium ou d'iodure de sodium dans un peu d'eau et ajouter environ 130mg d'iode. Après la dissolution de l'iode diluer à 100ml.

#### Mode opératoire

- En l'absence de substances oxydantes ou réductrices, opérer comme suit :

#### Fixation de l'oxygène

- Immédiatement après le prélèvement et de préférence sur les lieux même de celui-ci, introduire dans la fiole, contenant l'échantillon 1ml de la solution de sulfates de manganèse II [anhydre 340g/l ou monohydraté 380g/l] et 2ml de réactif alcalin d'iodure et de nitrure.

- Ajouter les réactifs sous la surface de l'eau en utilisant des pipettes étroites et minces.

- Remettre le bouchon avec précaution en évitant l'inclusion des bulles d'air dans la fiole.

- Retourner plusieurs fois la fiole pour homogénéiser son contenu.

Laisser le précipité qui se forme se déposer durant au moins 5minutes et mélanger en retournant à nouveau la fiole pour obtenir une bonne homogénéisation. La fiole peut alors être transportée au laboratoire. S'il est protégé de la lumière, l'échantillon peut être conservée jusqu'à 24h.

#### Libération de l'iode

Vérifier que le précipité formé est suffisamment décanté pour se trouver dans le tiers inférieur de la fiole.

Introduire lentement 1,5ml de la solution d'acide sulfurique concentré ou le volume correspondant d'acide phosphorique). Boucher la fiole puis

agiter pour dissoudre tout le précipité et jusqu' à ce que tout l'iode soit réparti.

### **Titration**

Transvaser le contenu de la fiole ou une partie aliquote (volume  $V_1$  dans une fiole conique).

Titration avec la solution de thiosulfate de sodium 10mmole/l en présence soit d'empois d'amidon ajouté vers la fin du titration soit d'un autre indicateur approprié.

### **Expression des résultats**

La teneur en oxygène dissous exprimée en mg/l d'oxygène est donnée par la formule :

$$O_2 \text{ mg/l} = \frac{Mr \cdot V_2 \cdot c \cdot f_1}{4V_1}$$

Où

$Mr$  : est la masse moléculaire relative de l'oxygène ( $Mr = 32$ ).

$V_2$  : est le volume en millilitres de la solution de thiosulfate de sodium (10 mmole/l) utilisé pour le titration du contenu de la fiole ou de la partie aliquote

$c$  : est la concentration réelle exprimée en millilitres par litre de la solution de thiosulfate de sodium.

$$f_1 = \frac{V_0}{(V_0 - V')}$$

$V_0$  : est le volume en millilitres de la fiole (fioles en verre à goulot fermé)

$V'$  : est la somme des volumes de la solution de sulfates de manganèse II [1ml] et du réactif alcalin [2ml]

$V_1$  : est le volume en millilitres de l'échantillon ou de la partie aliquote ( $V_1 = V_0$  si le volume total de la fiole est titré).

- En présence de substances oxydantes ou réductrices

En présence de matières en suspension susceptible de fixer ou de consommer de l'iode ou en cas de doute sur la présence de telles matières, déterminer de préférence la teneur en oxygène dissous selon la méthode électrochimique ou procéder selon le mode opératoire décrit dans ce qui suit :

En présence de ces substances il est nécessaire de prélever un second échantillon pour essai.

Remplir jusqu'à débordement avec de l'eau à analyser une fiole à bouchon rodé d'environ 1000ml de capacité, en prenant les précautions données en prélèvement des échantillons.

L'échantillon pour essai est constitué par la totalité de la fiole remplie.

En utilisant une pipette, introduire sous le niveau du liquide 20ml de la solution de sulfates d'aluminium et de potassium  $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$  solution à 10% (m/m) et 4ml de la solution d'ammoniaque  $c \text{ NH}_3 = 13 \text{ mole/l}$  (0,91g/ml).

### **- Vérification de la présence de substances oxydantes ou réductrices**

Si l'on suspecte la présence de substances oxydantes ou réductrices interférentes, prélever 50ml de l'eau à analyser en présence de deux gouttes de la solution de phénolphaléine (solution à 1g/l).

Ajouter 0,5ml de la solution d'acide sulfurique ( $1/2 \text{ H}_2\text{SO}_4 = 2 \text{ mole/l}$ ), quelques cristaux environ 0,5g d'iodure de potassium ou d'iodures de sodium et quelques gouttes de la solution de l'indicateur (empois d'amidon solution à 10g/l fraîchement préparée), si la solution se colore en bleu des substances oxydantes sont présentes, si la solution reste incolore, ajouter 0,2ml de la solution d'iode (solution à 0,005mole/l) et agiter. Laisser reposer durant 30 seconds si aucune coloration bleue n'apparaît, des substances réductrices sont présentes.

- En présence de substances oxydantes, opérer comme suit :

### **Principe**

Détermination par titration de la teneur en substances oxydantes autres que l'oxygène dissous sur un second échantillon pour essai. Correction de résultat obtenu.

### **Mode opératoire**

Prélever deux échantillons pour essai, effectuer sur le premier échantillon en suivant le mode opératoire.

### **Fixation de l'oxygène**

#### **Titration**

Transvaser quantitativement le second échantillon pour essai dans une fiole de volume approprié. Ajouter 1,5ml de la solution d'acide sulfurique (préparé à volume égal) ou le volume correspondant d'acide phosphorique, 2ml de réactif alcalin et 1ml de la solution de sulfate de manganèse. Laisser reposer durant 5mn, titré avec la solution de thiosulfate de sodium en

présence soit d'empois d'amidon ajouté vers la fin du titrage soit d'un autre indicateur approprié. L'expression de résultat: La teneur en oxygène dissous exprimée en milligramme d'oxygène par litre est donnée par la formule.

**Mr V2 cf1 / 4V1 - Mr V4c / 4V3**

Où

Mr est la masse moléculaire relative de l'oxygène (Mr = 32).

V<sub>2</sub> : est le volume en millilitres de la solution de thiosulfate de sodium (10 mmole/l) utilisé pour le titrage du contenu de la fiole ou de la partie aliquote c est la concentration réelle exprimée en millilitres par litre de la solution de thiosulfate de sodium.

$$f_1 = V_0 / (V_0 - V')$$

V<sub>0</sub> : est le volume en millilitres de la fiole (fioles en verre à goulot fermé)

V' : est la somme des volumes de la solution de sulfates de manganèse II [1ml] et du réactif alcalin [2ml]

V<sub>1</sub> : est le volume en millilitres de l'échantillon ou de la partie aliquote (V<sub>1</sub>=V<sub>0</sub>) si le volume total de la fiole est titré.

V<sub>3</sub> : est le volume en millilitres de la fiole contenant le second échantillon pour essai V<sub>4</sub> est le volume en millilitres de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour le titrage du second échantillon pour essai.

- En présence de substances réductrices, opérer comme suit :

### Principe

Oxydation de substances réductrices dans le premier et le second échantillon pour essai par addition d'un excès d'hypochlorite de sodium.

Détermination de la teneur en oxygène dissous dans l'un des deux échantillons pour essai.

Détermination de l'excès d'hypochlorite de sodium dans l'autre échantillon pour essai.

### Réactifs

- **Hypochlorite de sodium\***: Solution contenant environ 4g de chlore libre par litre obtenu par dilution d'une solution concentrée d'hypochlorite de sodium commercial dont le titre est déterminé par iodométrie.

### Mode opératoire

- Aux deux échantillons prélevés pour essai, ajouter 1,00ml (ou si nécessaire un volume plus

grand mesuré exactement), de la solution d'hypochlorite de sodium \*

- Boucher les fioles et mélanger.

- Procéder sur l'un des deux échantillons pour essai comme spécifié en :

- Fixation de l'oxygène.

- Libération de l'iode.

- Titration.

### Expression des résultats

La teneur en oxygène dissous, exprimée en mg d'oxygène par litre est donnée par la formule

**Mr V2 c f2 / 4V1 - Mr V4 c / (V3 -V5)**

Où

Mr est la masse moléculaire relative de l'oxygène (Mr = 32)

V<sub>2</sub> : est le volume en millilitres de la solution de thiosulfate de sodium (10 mmole/l) utilisé pour le titrage du contenu de la fiole ou de la partie aliquote c est la concentration réelle exprimée en millilitres par litre de la solution de thiosulfate de sodium.

V<sub>1</sub> : est le volume en millilitres de l'échantillon ou de la partie aliquote (V<sub>1</sub>=V<sub>0</sub> si le volume total de la fiole est titré V<sub>3</sub> est le volume en ml de la fiole contenant le second échantillon pour essai.

V<sub>4</sub> : est le volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium (10mmole/l) utilisé pour le titrage du second échantillon pour essai.

V<sub>5</sub> : est le volume en millilitres de la solution d'hypochlorite de sodium ajouté à l'échantillon pour essai, habituellement V<sub>5</sub> = 1,00ml.

$$f_2 = V_0 / (V_0 - V_5 - V')$$

V<sub>0</sub> : est le volume en millilitres de la fiole (fioles en verre à goulot fermé).

V' : est la somme des volumes de la solution de sulfates de manganèse II [1ml] et du réactif alcalin [2ml].

### II/Oxygène dissous : Méthode électrochimique EN 25814.

Les sondes dioxymétriques permettent une évaluation rapide du taux d'O<sub>2</sub> dissous. Ces sondes permettent d'afficher la teneur en oxygène dissous en mg/l ou en % de saturation en O<sub>2</sub>.

La difficulté de la manipulation est reportée sur l'étalonnage de la sonde dont la qualité détermine la précision de la mesure (la solubilité de l'O<sub>2</sub>

dans l'eau étant à 20°C de 8 à 9mg/l, une précision à 0,1g parait souhaitable).

Cette méthode, facile à mettre en œuvre, est souvent trop imprécise en vue d'une mesure de la DBO.

#### Mode opératoire

#### Technologie de mesurage et précaution à prendre

Il convient de se conformer aux indications données par les fournisseurs d'appareils.

Cependant l'attention est attirée sur les précautions suivantes :

- Il ne faut jamais toucher la membrane avec les doigts.

- Après changement d'électrolyte ou de membrane, ou si la membrane est devenue sèche, il faut humidifier cette dernière et atteindre la stabilisation de la lecture avant de procéder à l'étalonnage. Ce délai dépend du temps nécessaire de la consommation de l'oxygène dissous dans l'électrolyte.

- Veillez à ce que des bulles d'air ne restent pas emprisonnés dans la sonde lorsque celle-ci est plongée dans l'échantillon.

Il est essentiel que l'échantillon s'écoule de façon continue devant la membrane pour exclure l'éventualité d'une mesure erronée qui sera dû à l'épuisement de l'oxygène dans la zone directement en contact avec la membrane à cet effet il faut régler le débit de façon à éviter toute variation de la lecture.

Dans le cas des échantillons isolés, effectuer le dosage dans un récipient rempli jusqu'à débordé hermétiquement fermer et équiper d'un agitateur par exemple magnétique. Régler le régime d'agitation de la façon à obtenir une lecture stable en veillant à ce que l'air ne soit pas emprisonné dans l'échantillon.

#### Appareillage

- Un oxymètre.

- Une sonde à mesure d'oxygène.

#### Expression des résultats

La teneur en azote Ammoniacal en milligramme de N par litre est donnée par la formule :

$$(V_1 - V_0) T * 1000 * 14 / V_2$$

$V_1$  : est le volume en ml de solution d'acide sulfurique utilisé pour le dosage de l'échantillon.

#### 1.8. Protocole de dosage d'azote

##### ammoniacal ( $NH_4$ )

Selon la norme : **NF T 90-015-1** Méthode par acidimétrie après distillation et titrimétrie directe.

##### Produits chimiques

- Carbonate de Sodium, solution à 100g/l.

- Acide sulfurique concentré  $d=1,84$ .

- Acide sulfurique titré 0,01 ou 0,02 (ou Acide Chlorhydrique titré 0,01 ou 0,02).

- Indicateur de Tashiro (Rouge de méthyle + bleu de méthylène)

- Solution d'acide borique 20 g/l.

##### Appareillage

- Matériels courant de laboratoire.

- Appareils de distillation. (Mêmes conditions que la distillation de l'azote Kjeldahl)

- Burette au 1/20.

##### Mode opératoire

- P.E. : Prélever au moins 50ml de façon qu'elle contienne entre 0,2-20 mg/l exprimé en  $NH_4$ .

##### - Distillation et Dosage

- Introduire dans l'appareil de distillation la P.E. Ajouter 20ml de la solution de carbonate de sodium.

- Admettre la vapeur qui assure l'entraînement de l'azote ammoniacal durant au moins 20mn en recueillant le distillat dans 20ml de solution d'acide borique (assurer le barbotage) additionnés de quelques gouttes d'indicateurs.

- Procéder au dosage de l'une des manières suivantes :

- Selon NF T 90-015: la solution titrée d'acide sulfurique 0,1N si la P.E. contient entre 2-20 mg/l exprimée en  $NH_4$ .

- La solution titrée d'acide sulfurique 0,02 N si la P.E. contient entre 0,2-2 mg/l exprimée en  $NH_4$ .

- Après modification dans le cadre de la norme NFT 90 015 - 1

- l'acide chlorhydrique  $(1,18) \pm 0,01$

- Essai à blanc: Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions que le dosage que la P.E.

$V_0$  : est le volume en ml de solution d'acide sulfurique utilisé pour le dosage de l'essai à blanc.

$V_2$  : est le volume en ml de la P.E.

T : est la Concentration de la solution titrée de l'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) ou Cl pour le dosage.

**1.9. Protocole de dosage de nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)**

La norme **NF T 90-045 Août 1975 ISO:7890 – 3** est une méthode au salicylate de sodium mise en jours en 1989 : la norme **NF T 045 Juin 1989**.

**Principe**

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium, coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique.

**Réactifs**

- Salicylate de sodium 10g/litre : HO-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-COONa. Dissoudre 1±0,1g de salicylate de sodium dans 100±1ml d'eau. (À renouveler toutes les 24h)

- Acide sulfurique concentré c H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 18 mol/l (d = 1,84)

- Acide acétique cristallisable : c CH<sub>3</sub>COOH 17mol/l (d = 1,05).

- Alkali solution :

- NaOH 200g/l ± 2g

- Ethylène diamine-tétra acétique di-sodique (EDTA Na<sub>2</sub>) 50g ± 0,5g

Dissoudre avec précaution 200 g/l ± 2g de pastilles d'hydroxyde de sodium dans environ 800ml d'eau. Ajouter 50g ± 0,5g de sel di-sodique de l'acide éthylène diamine-tétra-acétique di-hydraté {[CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>2</sub>COOH) CH<sub>2</sub>-COONa]<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O}

Laisser refroidir à la température ambiante et compléter à 1litre avec de l'eau dans une éprouvette graduée Conserver dans une bouteille en polyéthylène. Ce réactif est stable indéfiniment.

- Azoture de Sodium : NaN<sub>3</sub> (0,5g/l). Dissoudre avec précaution 0,05±0,005g d'azoture de sodium dans environ 90ml d'eau puis compléter à 100ml avec de l'eau dans une éprouvette graduée. Conserver dans une bouteille de verre. Ce réactif est stable indéfiniment.

\*Ce réactif peut être remplacé par une solution d'acide sulfonique NH<sub>2</sub>. SO<sub>3</sub>H = 0,75g/l peut être également utilisée à la place de la solution d'azoture de sodium.

- Solution mère Etalon d'azote nitrique à (1000 mg/litre) : Dissoudre 7,215±0,001g de nitrates de potassium préalablement séché à 105°C pendant au moins 2h dans environ 750ml d'eau distillée. Transférer dans une fiole jaugée de 1l et compléter au trait jaugé avec de l'eau.

- Solution étalon à 100mg/l : 50ml de la solution mère dans une fiole jaugée de 500ml et compléter au trait jaugé.

- Solution Etalon à 1mg/l : 5ml de la solution (100mg/l) dans une fiole de 500ml, compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait. Préparer la solution au moment de l'emploi.

**Appareillage**

- Matériels courant de laboratoire.

- Spectromètre permettant de mesurer à une longueur d'onde λ = 415 nm équipe de cuve 40mm ou 50mm d'épaisseur.

- Capsules d'évaporation (ou béchers) de faibles volume (environ 50-60ml).

- Bain d'eau bouillante (pas au moins 06 capsules d'évaporation).

- Bain d'eau thermo-réglable pouvant maintenir une température de 25°C ± 0,5°C.

**Mode opératoire**

P.E.: le volume maximum de la P.E. pouvant servir au dosage des nitrates est de 25ml (0,2mg/l).

Utiliser des volumes plus petits (10 ml).

Laisser décanter les échantillons chargés en MES, les centrifuger ou les filtrer sur un papier filtre en fibre de verre.

Les échantillons présentant un pH supérieur à 8 doivent être neutralisé avec de l'acide acétique avant le prélèvement de la P.E.

**Essai à blanc:** Effectuer un essai à blanc en utilisant à la place de la P.E. de l'eau distillée, soit Ab l'absorbance du blanc

**Etablissement de la courbe d'étalonnage :**

Dans une série de béchers de 100 ml, introduire successivement :

N° des béchers	T	I	II	III	IV	V
Solution Etalon d'azote nitrique à 1mg / l (ml)	0	1	2	3	4	5
Correspondance en µg d'azote nitrique dans la P.E.	0	1	2	3	4	5
Développement de la couleur NaN <sub>3</sub> 0,5g/l±0,005ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Acide acétique 17mol/l ±0,002ml	0,2	0,2	0,5	0,2	0,2	0,2

Attendre au moins 5 minutes puis faire évaporer le mélange à sec dans le bain d'eau bouillante.

Ajouter ensuite  $1 \pm 0,001$  ml de la solution de salicylate de sodium (10g/l).

Sol .de salicylate de sodium (ml) $\pm 0,001$ ml	1	1	1	1	1	1
--	---	---	---	---	---	---

Homogénéiser et faire à nouveau évaporer à sec. Retirer la capsule du bain d'eau et laisser refroidir à la température ambiante

Ajouter  $1 \pm 0,01$  ml d'acide sulfurique (18mol/l) puis dissoudre le résidu dans la capsule en agitant légèrement. Laisser le mélange reposer pendant environ 10mn.

Acide sulfurique 18mol/l (ml $\pm 0,01$ )	1	1	1	1	1	1
---	---	---	---	---	---	---

Ajouter  $10 \pm 0,1$  ml d'eau distillée puis  $10 \pm 0,1$  ml de la solution d'alcali.

Eau distillée 10ml $\pm 0,1$	10	10	10	10	10	10
Solution d'alcali 10ml $\pm 0,1$	10	10	10	10	10	10

Transvaser le mélange dans une fiole jaugée de 25ml sans compléter au volume .Placer la fiole dans le bain d'eau à  $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$  pendant  $10 \pm 2$  mn.

Retirer la fiole et compléter au volume avec de l'eau distillée.

Ajuster avec de l'eau distillée à 25ml	-	-	-	-	-	-
Correspondance en $\mu\text{g}$ d'azote nitrique dans 1litre.	0	40	80	120	160	200

Mesurage spectrométrique : Mesurer l'absorbance des solutions obtenues à  $\lambda = 415$  nm dans des cuves de 40mm ou 50mm par rapport à de l'eau distillée ;  $A_s$  est l'absorbance des solutions obtenues.

#### Dosage

Introduire dans une capsule d'évaporation ou (béchers) la P.E. de volume  $V$  qui doit correspondre à une masse d'azote dû aux nitrates est comprise entre  $1-5\mu\text{g}$  ( $V = 10$ ml est recommandé)

Poursuivre comme indiqué dans "étalonnage et mesurage".

#### Correction tenant compte de l'absorption de la P.E.

Au cas où la couleur de l'échantillon peut constituer une interférence, effectuer les mêmes opérations sur une seconde prise d'échantillon sans ajouter le salicylate de sodium, soit  $A_t$  l'absorbance mesurée.

#### Expression des résultats.

Calculer l'absorbance due aux nitrates dans la P.E.  $A_r$

$$A_r = A_s - A_b - A_t$$

$A_s$  : Absorbance de l'échantillon.

$A_b$  : Absorbance du blanc.

$A_t$  : Absorbance de l'échantillon après correction. Déduire de la courbe d'étalonnage la masse des nitrates mN exprimée en  $\mu\text{g}$  correspondant à la valeur  $A_r$  de l'absorbance.

La teneur en Nitrates de l'échantillon exprimée en mg/l est donnée par la formule :

$$N(\text{NO}_3) \text{ mg / l} = \text{Valeur lue sur la courbe} * \text{Facteur de dilution}$$

Pour obtenir la teneur en nitrate, multiplier ce résultat par 4,43

#### 1.10. Protocole de dosage de nitrites ( $\text{NO}_2^-$ )

Selon la norme : **NF EN 26777 /MAI 1993 NF T 90-013**

- Spectrophotomètre avec filtre Nitrites  $\lambda = 530$  nm, Cuve 5cc et porte cuve 5cc.

#### Principe

Réaction des ions nitrites présents dans une P.E. à pH 1,9 avec le réactif amino-4 benzene sulfonamide en présence d'acide orthophosphorique pour former un sel diazoïque qui forme un complexe de coloration rose avec le dichlorohydrate de N- naphtyl-1 Diamino-1,2 éthane (ajouté avec le réactif amino-4benzene sulfonamide ) , mesurage de l'absorbance à 540nm.

#### Réactifs

Réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou de l'eau de pureté équivalente.

- Solution standard de nitrites 100 mg N/ l : Dissoudre  $0,4922 \pm 0,0002$ g de nitrite de sodium (séché à  $105^\circ\text{C}$  durant au moins 2h) dans environ 750ml d'eau distillée, transférer dans une fiole de 1l puis compléter à 1l. Conserver la solution dans

1flacon bouché en verre brun entre 2-5°C. Elle est stable pendant au moins 1mois.

- Solution standard de nitrites 1,00 mgN/l : Prélever à l'aide d'une pipette de 10ml de la solution étalon de nitrites (100 mgN/l), les introduire dans une fiole jaugée de 1000ml et compléter au volume avec de l'eau. Préparer cette solution chaque jour avant emploi.

- Acide orthophosphorique 15mole/l (1,70g/ml).

- Solution acide orthophosphorique 1,5mole/l : Ajouter à l'aide d'une pipette, 25ml d'acide orthophosphorique (15mol/l) à 150±25ml d'eau, homogénéiser et refroidir à une température ambiante.

Transférer la solution dans une fiole jaugée de 250ml et compléter au volume avec de l'eau. Conserver la solution dans un flacon en verre brun, elle est stable pendant au moins 6 mois.

#### Réactif coloré :

Dissoudre 40±0,5g d' amino-4 benzene Sulfonamide ( $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$ ) dans un mélange formé de 100±1ml d'acide orthophosphorique (15mole/l) et de 500±50ml d'eau dans un bécher.

Dissoudre dans la solution obtenue 2±0,02g de dichlorhydrate de N-naphtyl-1 Diamino-1,2 éthane ( $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\cdot 2\text{HCl}$ ).

Transférer dans une fiole jaugée de 1000ml et compléter au volume avec de l'eau. Bien

homogénéiser. Conserver la solution dans un flacon en verre brun, elle est stable pendant 1mois si elle est conservée entre 2-5°C.

#### Appareillage

- Toute la verrerie doit être soigneusement lavée avec une solution d'acide chlorhydrique à environ 2mol/l et bien rincé à l'eau distillée.

- Matériels courant du laboratoire.

- Spectrophotomètre permettant des mesures à une longueur d'onde de 540nm équipé de cuve de 10nm ou 50mm

#### Mode opératoire

- Filtrer l'échantillon.

- P.E. Variable de 1 à 40 ml : Dans une fiole jaugée de 50ml amener au cas du besoin le volume à 40±2ml avec de l'eau distillée.

- Plus 1ml de Sol colorée.

- Agiter et compléter à 50ml, le pH à ce stade doit être de 1,9±0,1

- Laisser la couleur se développer pendant 20 minutes.

- Passer au spectrophotomètre à 540nm en utilisant comme un liquide de référence l'eau distillée. La cuve de 1mm ou 50mm.

- Tracer la courbe d'étalonnage.

**Gamme étalonnage** Solution standard .1 mgN/l  
1 → µgN/ ml

N° de fioles de volume 50ml	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Nitrites étalon 1 mgN/l	0,0	0,5	1	1,5	2	2,5	5	7,5	10
Correspondance en $\text{NO}_2$ (N=m µg) dans la P.E	0,0	0,5	1	1,5	2	2,5	5	7,5	10
Correspondance en $\text{NO}_2$ (N=m µg) dans 1litre	0,0	10	20	30	40	50	100	150	200

Amener le volume à 40 ml ±2ml et procéder comme au mode opératoire.

Soustraire l'absorbance du témoin Zéro des absorbances obtenues des autres solutions d'étalonnage ( $A_r = A_s - A_b$ ) et tracer la courbe étalon en fonction de la masse de nitrites exprimée en azote .Les courbes doivent être linéaires et passer par l'origine.

#### Expression des résultats

Si l'on a procédé à une correction de la couleur (At), Ar doit être calculé comme suit :

$$A_r = A_s - A_b - A_t$$

- Déterminer à partir de l'absorbance corrigée, la courbe d'étalonnage la masse de nitrites exprimée en µg (N)

**N (NO<sub>2</sub>) mg / l = Valeur lue sur la courbe \***

#### Facteur de dilution

Pour obtenir la teneur en nitrites exprimée en  $\text{NO}_2$ , multiplier ce résultat par 3,29

#### 1.11. Protocole de dosage des ortho-phosphates P- $\text{PO}_4^{3-}$

Selon la norme : **NF EN 1189 / JANVIER 1997 T90-023**

#### Principe

Réaction des ions ortho-phosphates avec une solution acide contenant des ions de molybdate et

d'antimoine pour former un complexe d'antimonyl-phospho molybdate.

Réduction du complexe par l'acide ascorbique pour former un complexe de molybdène fortement coloré en bleu. Mesure de l'absorbance de ce complexe pour déterminer la concentration des ortho-phosphates présents.

Les poly-phosphates et certains composés organochlorés sont dosés après transformation par hydrolyse par l'acide sulfurique en ortho-phosphates réagissant avec du molybdate.

### Réactifs

- De qualité analytique reconnue. L'eau distillée doit y avoir une teneur en phosphate négligeable.

- Acide sulfurique : solution c  $H_2SO_4 = 9\text{ mol/l}$ . Introduire  $500 \pm 5\text{ ml}$  d'eau dans un bécher de 2l. Ajouter avec précaution sous agitation et refroidissement continu  $500 \pm 5\text{ ml}$  d'acide sulfurique ( $1,84\text{ g/ml}$ ). Bien mélanger et laisser la solution refroidir à température ambiante.

- Acide sulfurique : solution c  $H_2SO_4 = 4,5\text{ mol/l}$ . Introduire  $500 \pm 5\text{ ml}$  d'eau dans un bécher de 2l. Ajouter avec précaution sous agitation et refroidissement continu  $500\text{ ml} \pm 5\text{ ml}$  de c  $H_2SO_4 = 9\text{ mol/l}$ . Bien mélanger et laisser la solution refroidir à température ambiante.

- Acide sulfurique : solution c  $H_2SO_4 = 2\text{ mol/l}$ . Introduire  $300 \pm 3\text{ ml}$  d'eau dans un bécher de  $500\text{ ml}$ . Ajouter avec précaution  $110 \pm 2\text{ ml}$  de solution d'acide sulfurique c  $H_2SO_4 = 9\text{ mol/l}$ , sous agitation et refroidissement continu diluer à  $500 \pm 2\text{ ml}$  avec de l'eau et bien mélanger et laisser la solution refroidir à température ambiante.

- Hydroxyde de sodium. c  $NaOH = 2\text{ mol/l}$ . Dissoudre  $80 \pm 1\text{ g}$  d'hydroxyde de sodium en pastilles dans l'eau, refroidir et diluer à 1l.

- Acide ascorbique :  $100\text{ g/l}$ . Dissoudre  $10 \pm 0,5\text{ g}$  d'acide ascorbique ( $C_6H_8O_6$ ) dans  $100 \pm 5\text{ ml}$  d'eau. Cette solution est stable pendant deux semaines si elle est conservée dans une bouteille en verre brun au réfrigérateur et peut être utilisée tant qu'aucune coloration n'apparaît.

### Molybdate acide (solution I).

Dissoudre  $13\text{ g} \pm 0,5\text{ g}$  d'hepta-molybdate d'ammonium tétra-hydraté  $[(NH_4)_6MO_7O_{24}.4H_2O]$  dans  $100 \pm 5\text{ ml}$  d'eau.

Dissoudre  $0,35 \pm 0,05\text{ g}$  de tartrate de potassium et d'antimoine hemi-hydraté  $[(K(SbO)C_4H_4O_6.1/2H_2O)]$  dans  $100 \pm 5\text{ ml}$  d'eau.

Ajouter tout en agitant la solution de molybdate à  $300 \pm 5\text{ ml}$  d'une solution d'acide sulfurique c  $H_2SO_4 = 9\text{ mol/l}$ .

Ajouter la solution de tartrate de potassium et d'antimoine hemihydraté et bien mélanger. Conserver dans une bouteille en verre brun, ce réactif est stable pendant au moins deux mois.

### Molybdate acide (solution II).

Ajouter  $230\text{ ml} \pm 0,5\text{ ml}$  d'acide sulfurique c  $H_2SO_4 = 9\text{ mol/l}$  à  $70\text{ ml} \pm 5\text{ ml}$  d'eau et refroidir.

Dissoudre  $13 \pm 0,5\text{ g}$  d'hepta-molybdate d'ammonium tétra-hydraté  $[(NH_4)_6MO_7O_{24}.4H_2O]$  dans  $100 \pm 5\text{ ml}$  d'eau. L'ajouter à la solution acide et bien mélanger.

Dissoudre  $0,35 \pm 0,05\text{ g}$  de tartrate de potassium et d'antimoine hemi-hydraté  $[(K(SbO)C_4H_4O_6.1/2H_2O)]$  dans  $100 \pm 5\text{ ml}$  d'eau. L'ajouter à la solution de molybdate acide et bien mélanger.

Ce réactif est utilisé quand l'échantillon est acidifié avec de l'acide sulfurique c  $H_2SO_4 = 4,5\text{ mol/l}$ . Ce réactif est stable pendant 2 mois s'il est conservé dans une bouteille en verre brun.

Réactifs de compensation de turbidité et de la coloration. Mélanger deux parties en volume de la solution d'acide sulfurique c  $H_2SO_4 = 4,5\text{ mol/l}$  et une partie en volume de la solution d'acide ascorbique ( $100\text{ g/l}$ ). Conserver dans une bouteille en verre brun au réfrigérateur, ce réactif est stable pendant plusieurs semaines.

Thiosulfate de Sodium pentahydraté. Solution ( $12,0\text{ g/l}$ ). Dissoudre  $1,2 \pm 0,005\text{ g}$  de thiosulfate de sodium pentahydraté ( $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ ) dans  $100 \pm 5\text{ ml}$  d'eau puis ajouter environ  $0,05 \pm 0,005\text{ g}$  de carbonate anhydre ( $Na_2CO_3$ ) comme agent conservateur. Conserver dans une bouteille en verre brun, ce réactif est stable pendant 4 semaines au moins.

- Solution standard  $KH_2PO_4$   $50\text{ mg P/l}$ . Sécher quelques grammes de dihydrogénophosphate jusqu'à masse constante à  $105^\circ\text{C}$ . Dissoudre ( $0,2197\text{ g } KH_2PO_4 / 1 \pm 0,0002\text{ g}$ ) dans environ  $800 \pm 10\text{ ml}$  d'eau dans une fiole jaugée de  $1000\text{ ml}$ . Ajouter  $10 \pm 0,5\text{ ml}$  de solution d'acide sulfurique  $4,5\text{ mol/l}$ . Conserver dans un flacon en

verre bouché. Cette solution est stable pendant au moins trois mois Une réfrigération à environ 4°C est recommandée.

- Solution fille d'orthophosphate (2mg/l P). Introduire à l'aide d'une pipette de 20±0,01ml de la solution mère d'orthophosphate (50mg/l P) dans une fiole jaugée de 500ml. Compléter au volume avec de l'eau et bien mélanger. Préparer et utiliser cette solution le jour de l'emploi. 1ml de cette solution étalon contient 2µg de phosphore.

- Acide Chlorhydrique (1,12g/ml)

- Acide Chlorhydrique c HCl =2mol/l. Ajouter 200±10ml d'acide chlorhydrique (1,12g/ml) à 500±10ml d'eau. Mélanger et laisser refroidir à température ambiante. Compléter à 1000ml avec de l'eau.

#### Appareillage

- Spectrocolorimètre du type à prisme ou à réseau ou du type filtre susceptible de recevoir des cuves optiques de 10mm à 50mm d'épaisseur. Le spectromètre à choisie doit convenir pour la mesure de l'absorbance dans les régions du

#### - Etalonnage : Etablissement de la Gamme. Dans des fioles de 50ml.

Solutions.	T	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IV	X
Solution étalon 2 mg/l ml	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
H <sub>2</sub> O ml	Diluer à environ 40ml										
Phosphore en : µ g /l	0	0,04	0,08	0,12	0,16	0,2	0,24	0,28	0,32	0,360	0,4

Développement de la coloration : ajouter tout en agitant

Acide ascorbique ml	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Moly .Aci.I ml	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

#### Mesure Spectrocolorimétrique

Passer au spectrocolorimètre à 880nm en utilisant des cuves 10mn ou 50mm d'épaisseur

#### Etablissement de courbe d'étalonnage

- La relation entre l'absorbance et la concentration est linéaire. Déterminer la pente de la courbe. Contrôler la linéarité de la courbe.

Mesure des échantillons : Procéder comme la gamme étalon.

\*Au cas où l'échantillon est chargé en Arsenic : traiter l'échantillon comme suit :

-P.E. = Variable de 1à 40 ml en utilisant une cuve de 10mm d'épaisseur. Pour des concentrations faibles utiliser une cuve optique de 40mm ou 50mm.

spectre visible et proche de l'infrarouge, la longueur d'onde la plus sensible est 880nm.

- Ensemble filtrant type MES avec filtre de porosité 0,45µm.

- Préparation de la verrerie : Toute la verrerie doit être lavée avec une solution d'acide chlorhydrique 1,12g/ml à 40-50°C et rincée. Ne pas utilisé des détergents contenant des phosphates. Il est préférable d'utiliser cette verrerie pour le dosage unique des phosphates.

#### Mode opératoire

- Filtrer l'échantillon avec du papier de porosité 0,45µm.

- Si le pH de l'échantillon n'est pas compris entre 3-7, l'ajuster avec une solution d'hydroxyde de sodium (2mol/l).

-P.E. = Variable de 1à 40 ml en utilisant une cuve de 10mm d'épaisseur. Pour des concentrations faibles utiliser une cuve optique de 40mm ou 50mm.

- Essai à blanc, utiliser le volume approprié d'eau distillée à la place de la P.E. et les mêmes quantités de réactifs

- plus 1ml d'acide ascorbique (100g/l).

- plus 1ml de la solution de thiosulfate (12g/l)

- Mélanger et laisser se produire la réduction pendant 10mn±1mn

- Ajouter 2ml de molybdate d'ammonium acide II (Solution II).

- Compléter au volume avec de l'eau et bien mélanger et procéder à la mesure spectrocolorimétrique.

\*Au cas où l'échantillon est trouble ou est coloré.

-Ajouter 3ml du réactif de compensation de la turbidité et de la coloration (réactif de compensation de la turbidité et de la coloration) au volume de la P.E., diluer à 50ml et mesurer l'absorbance. Retrancher l'absorbance ainsi

obtenue de la valeur mesurée de l'échantillon  
obtenue conformément à l'établissement de la  
gamme étalon.

### **Expression des résultats**

**P-PO43- mg/l = Valeur lue sur la courbe**  
**\*Facteur de dilution**

---

### **Spécification techniques du spectrophotomètre.**

Nitrates  $\lambda= 415$  nm, Nitrites  $\lambda= 530$  nm, Orthophosphates  $\lambda= 880$  nm.

Sur la base de ces données les spécifications techniques du spectrophotomètre de mesure doit être de routine dont les principales spécifications sont:

- Visible de routine mono-faisceau, Gamme Spectrale 325-1100nm.
- Bande passante : 8nm ou 5nm, Avec Cuve 1cc et 5cc et porte cuve.

## Annexe 05

## L'Étiquetage, la précision, La sensibilité et Expression des résultats

## 1. Étiquetage des échantillons

L'étude microbiologique a été réalisée sur les sept échantillons prélevés à chaque étape d'épuration où les différents ouvrages ont été mentionnés par une suite alphabétique de A (l'entrée) jusqu'au F et G (les deux produits finaux de processus de la STEP) ; les eaux épurées qui rejoignent l'oued et des boues en excès destinées à l'enrichissement des sols agricoles.

Les ouvrages échantillonnés	
A	Eaux brutes
B	Bassin de contact
C	Bassin d'aération
D	Bassin d'anoxie
E	Décanteur / Clarificateur
F	Eaux traitées
G	Boues extraites.

## 2. La précision du dénombrement

Elle dépend, entre autres, du nombre de colonies comptées. Parmi les diverses indications statistiques permettant d'évaluer les intervalles de confiance en fonction de ce facteur, citons celles retenues dans *The Bacteriological examination of water supplies* :

- Si le compte de colonies est supérieur à 20, la limite inférieure de cet intervalle est donnée par  $c - 2(1 + \sqrt{c})$  et la limite supérieure par  $c + 2(2 + \sqrt{c})$ , formules dans lesquelles  $c$  est le nombre de colonies comptées.

Ces valeurs ne sont d'ailleurs qu'approximatives. Selon ces données, ces intervalles sont en moyenne pour un compte de 20 colonies de  $\pm 60 \%$ . Ces moyennes

deviennent respectivement  $\pm 50 \%$ ,  $\pm 35 \%$ ,  $\pm 23 \%$ ,  $\pm 15 \%$  et  $\pm 12 \%$  pour des comptages de 30, 50, 100, 200 et 300 colonies. (Rodier *et al.*, 2009).

Et comme les dénombrements effectués lors des premiers prélèvements sont tous supérieurs à 300 colonies elles nous donnèrent des intervalles de confiance inférieur à 12% ce qui n'est pas d'avantage pour notre étude et comme les échantillons sont bien prise de la STEP est donc des eaux d'égouts la colimétrie aussi n'était pas intéressante ni avantageuse car on a arrivé jusqu'à des dilutions de  $10^{-50}$  et la série de trois du NPP donne toujours le code 333 c'était donc du gaspillage des milieux de cultures la raison pour la quelle ces deux méthodes ont été délaissées dans les analyses bactériologiques suivantes.

## 3. La sensibilité

Elle dépend du volume d'échantillon qui peut être utilisé comme prise d'essai. Un *seuil de détection* peut être défini, c'est-à-dire la présence d'une colonie sur le milieu de culture ; si la prise d'essai ne peut, dans la technique choisie, dépasser 0,1 ml, le seuil de détection sera de 10 germes par ml ; si elle est de 100 ml, elle sera 1 000 fois plus élevée, soit 0,01 germes par ml.

Cependant au seuil de détection, la précision est extrêmement faible. Pour obtenir une précision de l'ordre de 50 %, il faudrait donc

compter 30 colonies, ce qui entraîne, dans les exemples choisis, un *seuil acceptable de sensibilité* de 300 et 0,3 germes par 1 ml. **(Rodier et al., 2009).**

En ce qui concerne la sensibilité et pour des résultats fiables de la détection de tel ou tel germe soit bien mise en évidence on a procédé comme suite :

- La prise d'essai était de 0.1ml soit de 1µl avec trois répétitions sur chaque milieu de culture.
- Seules les colonies d'un aspect identiques poussent dans au moins deux boîtes sont prises pour une purification de la culture et une identification via des galeries API.
- Sauf que l'identification préliminaire d'une même souche dans plus d'un ouvrage n'empêche pas d'identifier les deux, ce qui nous a permis de déterminer des germes bien très proches les uns aux autres.

### **3.1. Dénombrement par des stries ou par étalement en surface**

Un faible volume d'échantillon est réparti avec un étaleur stérile (pipette Pasteur repliée en râteau), ou par l'ensemencement d'une goutte de 0,01ml par une pipette Pasteur puis l'étaler par la même pipette après l'avoir fermé à la flamme du bec sur la surface d'une gélose en boîte de Pétri, pour une précision exigée de  $\pm 50$  %, la sensibilité acceptable sera de 150 UFC par ml. **(Lansing et al., 2007 ; Rodier et al., 2009).**

Cette technique a l'avantage de ne pas donner lieu à des chocs thermiques. Elle est particulièrement favorable pour les germes aérobies stricts. Elle permet une différenciation des colonies orientant leur diagnostic et leur repiquage vu leurs formes, couleurs et contours. **(Rodier et al., 2009).**

### **4. L'expression des résultats**

Les tableaux récapitulent la date de l'échantillonnage, les différents milieux sur lesquels on a réalisé l'ensemencement, les repiquages et les isolements, puis les noms des bactéries qu'on a identifiées à l'aide des galeries d'identification commercialisées API 20E, API 20 NE. Finalement, la série des 18 antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme qui confirment si les souches isolées sont bien des souches sauvages proviennent du milieu naturel ou en contrepartie résistantes et donc déjà passée au contact de ces fameuses molécules thérapeutiques.

Le premier tableau exprime les résultats du 31/05/2011 au 06/06/2010,

Le deuxième tableau correspond aux résultats obtenus du 29/06/2011 jusqu'au 10/07/2011,

Le troisième tableau résume les résultats du 31/07/2011 jusqu'au 08/08/2011,

Et en fin le quatrième tableau combine les résultats des derniers prélèvements du 28/08/2011 jusqu'au 04/09/2011.

**Tab. 5: Classification phylogénétique des souches identifiées (Baumann & Schubert, 1984; Garrity *et al*, 2001; 2002; 2003; 2004;**

<b>Domaine</b>					
<b>Règne</b>					
<b>Embranchement</b>					
<b>Classe</b>	<i>Alpha Proteobacteria</i>	<i>Beta Proteobacteria</i>			
<b>Ordre</b>	<i>Sphingomonadales</i>	<i>Burkholderiales</i>	<i>Aeromonadales</i>		
<b>Famille</b>	<i>Sphingomonadaceae</i>	<i>Alcaligenaceae</i>	<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Moraxellaceae</i>	
<b>Genre</b>	<i>Sphingomonas</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Moraxella</i>
<b>Nom binominal</b>	<i>Sp. paucimobilis</i>	<i>Al. denitrificans</i>	<i>A. hydrophila</i> / <i>Bacillus hydrophilus</i>	<i>A. junii</i>	<i>M. lacunata</i>

2007; George *et al*, 2004; Farmer III & Janda, 2005).

survey

<i>Prokaryota</i>					
<i>Bacteria</i>					
<i>Proteobacteria</i>					
					<i>Gammaproteobacteria</i>
<i>Pseudomonadales</i>					
<i>Pseudomonadaceae</i>					
<i>Pseudomonas</i>			<i>Enterobacter</i>	<i>Proteus</i>	
<i>P. oryzihabitans / Flavimonas oryzihabitans</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>En. cloacae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus mirabilis</i>

<i>Enterobacteriales</i>							<i>Vibrionales</i>
<i>Enterobacteriaceae</i>							<i>Vibrionaceae</i>
<i>Morganella</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Klebsiella</i>		<i>Citrobacter</i>		<i>Serratia</i>	<i>Vibrio</i>
<i>Morganella morganii</i>	<i>E. coli 1</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. farmeri</i>	<i>C. freundii</i>	<i>Sr. marcescens</i>	<i>V. cholerae</i>

---

## Résumé

L'eau est une substance unique parce qu'elle s'auto-épure par le processus de boues activées. L'objectif principal de ce mémoire est l'étude microbiologique et physico-chimique des eaux en amont et en aval dans la station d'épuration de Timgad.

Il s'est avéré que 89.47% de la biocénose microbienne identifiée appartient aux  $\gamma$ -*Proteobacteria*, alors que  $\alpha$ -*Proteobacteria* et  $\beta$ -*Proteobacteria* sont à égalité avec 5.26%.

Les profils d'antibiogrammes dévoilent que les souches sauvages ont eu des pourcentages supérieurs à 30%, les bactéries pénicillinases sont souvent présente [11,30-20%] ainsi que d'autres profils.

L'excès de l'oxygène injecté empêche la dernière étape de dénitrification, mais la qualité physico-chimique des eaux traitées a été bonne pour tous les paramètres analysés.

## Abstract

Water is self-purified by activated sludge process which makes its uniqueness. The main goal of this thesis is the microbiological and physico-chemical study of the input and output water of the wastewater treatment system plant Timgad.

89.47% of the identified biocenosis belongs to  $\gamma$ -*Proteobacteria* while the remaining 10.52% is equally divided between  $\alpha$ -*Proteobacteria* and  $\beta$ -*Proteobacteria*.

The antibiotics susceptibility profiles reveal that over 30% are wild strains while the penicillinases are often present (11.30-20%) with also other profils.

The excess of oxygen injected prevents last denitrification step but the physico-chemical quality of treated water is good for all tested parameter.

## ملخص

الماء مادة فريدة من نوعها لأنها تستطيع تنقية نفسها بواسطة الحمأة المنشطة. الهدف الرئيسي لهذه الأطروحة هو الدراسة الميكروبيولوجية، الفيزيائية والكيميائية للمياه قبل و بعد التنقية التي تتم بمحطة المياه المستعملة لمدينة تيمقاد.

دلت النتائج المتحصل عليها أن 89.47% من الجراثيم التي تم تحديدها تنتمي إلى *r-Proteobacteria* ، في حين تنقسم كل من *α-Proteobacteria* و *β-Proteobacteria* نسبة 10.52 % المتبقية بالتساوي.

كشفت اختبارات الحساسية تجاه مجموعة من المضادات الحيوية عن سلالات متوحشة بنسبة مئوية تفوق 30 %، فيما تراوحت نسبة السلالات المقاومة للبنسيلين ما بين 11,30 إلى 20% إضافة إلى سلالات أخرى بملامح مقاومة مختلفة.

نوعية المعالجة الكيميائية و الفيزيائية للمياه كانت جيدة عموما غير أن الكميات الزائدة من الأوكسجين أثرت سلبا على ازالته الأزوت نهائيا حيث تعرقل آخر مرحلة لإتمام المعالجة والتي تتطلب عدم وجود الأوكسجين في الوسط

*M.elle.* **ZINEB ABDESSEMED**

**MAGISTER**

*En microbiologie des écosystèmes aquatiques*

*Thème : Etude Microbiologique au niveau d'une*

*Station d'Épuration*

*« STEP Timgad »*

## **Résumé**

L'eau est une substance unique parce qu'elle s'auto-épure par le processus de boues activées. L'objectif principal de ce mémoire est l'étude microbiologique et physico-chimique des eaux en amont et en aval dans la station d'épuration de Timgad.

Il s'est avéré que 89.47% de la biocénose microbienne identifiée appartient aux  $\gamma$ - *Proteobacteria*, alors que  $\alpha$ - *Proteobacteria* et  $\beta$ - *Proteobacteria* sont à égalité avec 5.26%.

Les profils d'antibiogrammes dévoilent que les souches sauvages ont eu des pourcentages supérieurs à 30%, les bactéries pénicillinases sont souvent présente [11,30-20%] ainsi que d'autres profils.

L'excès de l'oxygène injecté empêche la dernière étape de dénitrification, mais la qualité physico-chimique des eaux traitées a était bonne pour tous les paramètres analysés.

**Mots clés :** boues activées, biocénose microbienne, profils d'antibiogrammes, pénicillinases, qualité physico-chimique

**Promotion :** 2009/2012