

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Djilali Bounaama Khemis Miliana
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de : Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention d'un diplôme de Master
en :biologie

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Thème du Mémoire

CARACTERISATION MICROBIOLOGIQUE DES EAUX USEES
TRAITEES ET DE LA BOUE RESIDUAIRE DE LA STEP DE AIN
DEFLA ET SON IMPACT SUR LE SOL

Présenté par:
ZAOUIMENE

Soutenu le : Juillet 2018 , Devant le jury:

Présidente: Mme TOUHARI F.

MCB (U.D.B Khemis Miliana)

Promotrice : Mme GUETARNI H.

MCB (U.D.B Khemis Miliana)

Examinatrice : Mme BENSEHAILAS

MCB (U.D.B Khemis Miliana)

Année universitaire : 2017/2018



REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord le bon Dieu qui m'a donné le courage et la patience pour terminer ce modeste travail.

Je tiens à exprimer mes remerciements et ma profonde gratitude à mon encadreur Docteur GUETARNI H. qui a accepté de m'encadrer, de diriger ce travail, et pour ses aides très précieuses.


Je tiens à exprimer mes remerciements.

Mme TOUHARI F. Maitre de conférence à l'université de KHEMIS MELIANA qui ma fait l'honneur de présider ce jury

Mme BENSEHAILA S Maitre assistant qui m'a fait le grand honneur d'accepter de faire partie du jury

Mes sincères remerciements vont également à toute l'équipe du service du laboratoire d'hygiène de la Wilaya Tipasa

Enfin, un grand merci à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.





*A tous ma
famille et tous
ceux qui ont
participé de près ou
de loin à la
réalisation de ce
travail.*



Sommaire

Remerciement

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Introduction générale	1
I:GENERALITES SUR LES EAUX TRAITEES	3
1.2.1-Les grandes étapes du traitement	
1.2.1.1-Le prétraitement	3
1.2.1.2-Traitements physico-chimiques : traitements primaires	4
1.2.1.3-Le traitement secondaire	4
1.2.1.4-Traitements tertiaires	5
I.3-La réutilisation des eaux usées en agriculture	5
I.4- La réutilisation des eaux usées	6
I.4.1- Bilan mondial	6
I.4.2 - Cas de l'Algérie	6
I.5- Enjeux de la réutilisation des eaux usées	7
I.5.1- Enjeux environnementaux	7
I.5.2 Enjeux économiques	7
I.5.3 Enjeux sociaux	8
II:GENERALITES SUR LES BOUES	8
II.1- Nature et origine	8
II.2-Principales étapes de traitements de boues	9
II.2.1-Procédés de réduction de la teneur en eau :	9
II.2.1.1 Lit de séchage	9
II.2.1.2-L'épaississement	9
II.2.1.3- La déshydratation	10
II.2.2-Stabilisation des boues	10
II.3-composition des boues	10
II.3.1-Matières organiques	11
II.3.2-Eléments fertilisantes et amendements	11
II.3.3-Contaminants chimiques inorganiques et organiques	11
II.3.4- Les micro-organismes	11
II.4-Intérêt agronomique des boues	12
III: LA MICROFLORE DU SOL	13
III.1-Microflore du sol	13
III.1.1- Bactéries	13

III.1.2-Actinomycètes	14
III.1.3-Champignons	15
III.1.4-les algues	15
III.2- Pratiques agricoles et risque de transfert des bactéries pathogènes dans le sol	16
III.2.1- Les effluents d'élevage et matières fécales	16
III.2.2- Les boues de station d'épuration	16
III.2.3-L irrigation.....	16
III.3-Les cycles biogéochimiques	17
III. 3.1- Le cycle de l'azote	17
III.3.1.1- Fixation d'azote atmosphérique.....	17
III.3.1.2-transformation de l'azote dans le sol	17
III.3.2-Le cycle de carbone.....	19
III.3.3-Le cycle de soufre.....	20
III.4- Rôle de microorganisme dans la structure du sol:	21
Chapitre 2 : Matériel et Méthodes	22
1. présentation de la station d'épuration de la ville de Ain defla	24
1.1 situation géographique	24
1.2 caractéristique de la step de Ain defla :	24
1.3. description et fonctionnement de la STEP :	24
2. Echantillonnages	24
2.1. source d'échantillonnage	24
2.2.technique d'échantillonnage	24
3-analyses des échantillons	24
3.1. Analyse physico-chimique du sol	24
3.1. Humidité :	24
3.2. Conductivité électrique :	25
3.3. pH.....	25
4. Etude microbiologique des eaux traitées, boue et sol.....	25
4.1. Tests communs	25
4.2. Tests microbiologiques des eaux traitées	27
4.4. Analyses microbiologiques du sol (Technique de dénombrement des microflore tellurique)	31
4.4.1. Préparation des dilutions décimales	31
4.4.2. Microflore bactérienne :	32
4.4.3. Champignons :	32
5. Contrôle microbiologique de tomate.....	32
5.1. Préparation des échantillons d'aliments pour analyse microbiologique.....	33
5.2. Broyage et homogénéisation.....	33
5.3. Dénombrement et identification des germes	33

5.3.1. Dénombrement des germes totaux (FMAT).....	33
5.3.2. Dénombrement des coliformes totaux(CT)	34
5.3.3. Dénombrement des coliformes fécaux(CF).....	34
5.3.4. Dénombrement de Staphylococcus aureus	34
5.3.5. Dénombrement des germes anaérobies sulfito-réducteurs.....	36
5.3.6. Recherche des Salmonelles.....	36
III. Résultats et discussions	39
3.1. Contrôle microbiologique des eaux usées	39
3.2. Contrôle microbiologique de la boue	41
3.3. Contrôle microbiologique de la tomate	43
3.4. Résultats des analyses du sol :	45
3.4.1. Résultats des analyses physico-chimiques :.....	45
3.4.2. Résultats des analyses microbiologiques :.....	45
Conclusion générale	53

Référence bibliographique

Annexe

Liste des abréviations

BCPL : BOUILLON LACTOSE AU POURPRE DE BROMOCRESOL

EPA : EAU PEPTONNEE ALCALINE

GNAB : GELOSE NUTRITIVE ALCALINE BILE

NPP : NOMBRE LE PLUS PROBABLE

OGA : OXYTETRACYCLIQUE GLUCOSE AGAR

OMS : ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE

PH : POTENTIEL HYDROGENE

STEP : STATION D'EPURATION DES EAUX USEES

TSI : TRI SUGAR IRON

Liste des figures

FIG0 1 : CYCLE DE L'AZOTE

FIG 02 : CYCLE DE CARBONE (CO₂)

FIG 03 : : Plan de la situation géographique de la STEP d'Ain Defla

FIG 04 : Situation géographique de terrain de prélèvement du tomate

FIG 05 : **Figure 05 : Situation géographique de terrain de prélèvement du tomate**

FIG 06 : Densité Des Germes Pathogènes Dans Les Quatre Echantillons Des Eaux Usées

FIG 06 : Aspect Des Streptocoques Fecaux Sur Milieu Slanetz Et Bartley

FIG 07: Aspect Des CLOSTRIDIUMSulfitoReducteurssur Milieu Viande Foie

FIG 08 : Aspect Des Coliformes Totaux Et Fecaux Sur Milieu Tergitol.

FIG 09: Densité Des Germes Pathogène Dans Les 4 Echantillons De La Boue.

FIG 10:ŒUF D'HELMINTHE SOUS MICROSCOPE OPTIQUE

FIG11 : Aspect Des ClostridiumSulfitoReducteurs Sur Milieu Viande Foie.

FIG12 : L'aspect De Staphylococcus Aureus Sur Milieu Chapman.

FIG13: La Densité De La Microflore Bactérienne Dans Les Deux Sols

FIG14 : Aspects Macroscopique Des Colonies Des Bactéries

FIG15: La Densité Des Champignons Dans Les Deux Sols.

FIG 16 : La Densité Des Azotobacters Dans Les Deux Sols.

FIG 17: Aspect De Colonie D'azotobacter

Liste des tableaux

Tableau 1 :Echantillon Prélevé Du Sol Irrigué Et Sol Epandu

Tableau 2 : Résultats d'analyse bactériologique des eaux uséesde la station d'épurationd'aindefla

Tableau 3 : résultats d'analyse bactériologique des bouesde la stationd'épurationd' Ain Defla

Tableau 4: Résultats de contrôle microbiologique de la tomate

Tableau 5: Résultats des analyses physico-chimique

Tableau 6 : Dénombrement des microorganismes dans sol irriguépar les eaux usées

Tableau 7: Dénombrement des microorganismes dans le sol épandu par la boue

ملخص

يهدف العمل الحالي إلى دراسة مدى ملاءمة استخدام مياه الصرف الصحي المعالجة والحماة المتبقية من محطة معالجة مياه الصرف الصحي في عين الدفلة في الزراعة وتقييم الجودة الميكروبيولوجية للمنتجات الزراعية المزروعة على التربة التي تنتشر بواسطة الحماة. لهذا الغرض ، تم إجراء التحليلات الميكروبيولوجية لمياه الصرف الصحي المعالجة والحماة والطماطم لمعرفة تأثير الري بمياه الصرف الصحي المعالجة وانتشار الحماة على النباتات الدقيقة. تؤكد النتائج وجود جراثيم مختلفة في مياه الصرف الصحي المعالجة. بمقارنة الجودة الميكروبيولوجية لهذه المياه بالمعايير الجزائرية ومنظمة الصحة العالمية ، يمكن استخدام هذه المياه للري. الحماة المتبقية المستخدمة في اختبارات تطبيق الأرض تحتوي على الجراثيم التالية: القولونيات الكلية ، القولون الكلية ، القولونيات البرازية ، المطثيات ، المكورات العقدية البرازية ، المكورات العنقودية الذهبية وبيض الديدان الطفيلية ، الطماطم التي تزرع في التربة المنتشرة بواسطة الحماة مناسبة للاستهلاك. أظهرت دراسة تعداد التربة أن البكتيريا هي أكثر الكائنات الحية الدقيقة السائدة في كل من التربة النشاط البيولوجي للفلورا الصغيرة في التربة وأن الري بالمياه المعالجة والانتشار بالطين يزيد من النشاط

الكلمات المفتاحية: التربة ، الحماة ، الخطوة ، المياه العادمة ، الميكروفلورا ، الطماطم ، محطة معالجة مياه الصرف

الصحي عين الدفلة

Résumé :

Le présent travail vise à étudier l'aptitude de l'utilisation des eaux usées traitées et de la boue résiduaire de la STEP de Ain Defla dans l'agriculture et d'évaluer la qualité microbiologique des produits agricoles cultivés sur le sol épandu par la boue. Pour cela, des analyses microbiologiques des eaux usées traitées, de la boue et de la tomate ont été effectuées pour voir l'effet de l'irrigation avec les eaux usées traitées et l'épandage par la boue sur la microflore. Les résultats confirment la présence de divers germes dans les eaux usées traitées. Par comparaison de la qualité microbiologique de ces eaux avec les normes algériennes et de l'OMS, ces eaux en peuvent être utilisées en irrigation. Les boues résiduaires utilisées dans les essais d'épandage contiennent les germes suivants coliforme totaux, coliforme fécaux, clostridiums, streptocoque fécaux, *Staphylococcus aureus* et les œufs d'helminthes, la tomate cultivée dans le sol épandu par la boue est apte d'être consommée. Le dénombrement de la flore tellurique du sol a montré que les bactéries sont les microorganismes les plus dominants dans les deux sols et que l'irrigation par les eaux traitées et l'épandage par la boue augmente l'activité biologique de la microflore du sol.

Mots clés : Sol, Boue résiduaire, STEP, Eau usée, Microflore, Tomate.

Abstract:

The present work aims to study the suitability of the use of treated wastewater and waste sludge from the AinDefla STEP in agriculture and to evaluate the microbiological quality of agricultural products grown on mud-spreading soil. For this, microbiological analyzes of treated wastewater, sludge and tomato were carried out for the effect of irrigation with the treated wastewater and the mud spreading on the microflora. The results confirm the presence of various germs in the treated wastewater. By comparison, of the microbiological quality of these waters with Moroccan standards and WHO, these waters can be used for irrigation. The residual sludge used in the land application trials contains the following germs total coliform, faecal coliform, clostridia, faecal streptococcus, Staphylococcus aureus and helminth eggs ,that the tomato grown in the soil spread by the sludge is suitable for consumption. Counting the soil flora has shown that bacteria are the most dominant microorganisms in both soils and that irrigation by treated water and sludge application increases the biological activity of the soil microflora.

Key words: Soil, Sludge, STEP, Wastewater, Microflora, Tomato.

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION

Le sol est un support de vie, abrite une faune et une microflore très variée et abondante. Ses activités vitales sont essentielles au fonctionnement des écosystèmes et à la formation du sol (**Gobet et al. 2003**).

La notion de fonctionnement biologique du sol correspond à un système d'interactions entre différents compartiments de la couverture pédologique qui font intervenir un acteur biologique (micro-organisme), ces interactions induisant un certains nombres de fonctions écologiques, agronomiques ou environnementales de la couverture pédologique (**Attab,2011**).

L'eau est un élément vital indispensable à la vie de tous les êtres vivants sur terre, c'est le lieu où la vie pris naissance et une grande partie des phénomènes vitaux s'y déroule encore. Il est aussi indispensable au développement des sociétés : santé, nourriture, ou activités humaines

Après leur utilisation, ces eaux seront contaminées par plusieurs produits chimiques et des agents pathogènes. Afin de leur recyclage, ces eaux souillées d'origine urbaine ou industrielle doivent être collectée puis soumis à plusieurs phénomènes d'épuration. Le traitement des eaux, qu'il s'agisse de production d'eau épurées, conduit toujours à la formation de boues que l'on sépare de l'eau traitée. Ces boues se présentent à la sortie de la station d'épuration comme un liquide à forte teneur en eau ou sèche, les boues sont considérées comme de bons fertilisants agricoles qui contribuent à amélioration de la qualité du sol car elles sont riches en matière organique et en macronutriments azotés et phosphatés (**Frtas et al.,2015**).

Cependant, les boues d'épuration sont riches en substances chimiques et en microorganismes dont les effets sont indésirables soit pour la conservation des sols, soit pour la qualité alimentaire des cultures, soit pour la santé de l'homme et des animaux. Elles peuvent également être chargées en divers polluants : éléments traces métalliques, substances organiques. La présence de ces micropolluants, réglementés ou non, dans les boues de stations de traitement des eaux usées pose la question de leur devenir et de leur impact sur les milieux depuis leur production jusqu'à l'épandage. (**Frtas et al.,2015**).

INTRODUCTION GENERALE

En effet, les sols traités avec des boues gardent plus longtemps l'humidité et la végétation installée sur de tels sols un système racinaire plus développé comparativement aux sols non traités (Azzabi,2012).

Le présent travail a pour objectifs d'étudier :

1. La possibilité de la valorisation des boues résiduelles et des eaux usées de la STEP de AIN DEFLA et l'aptitude de la consommation de la tomate cultivée dans le sol épandu par la boue en effectuant des analyses microbiologiques des eaux usées traitées, la boue et la tomate.
2. L'effet de l'irrigation par les eaux usées épurées et l'épandage par la boue sur la microflore du sol en dénombrant de la flore tellurique du sol témoin et le sol irrigué et épandu par la boue.

Pour arriver à cet objectif, nous avons structuré notre travail comme suit :

- Le premier chapitre traite les généralités sur les eaux usées , les boues résiduelle et la microflore du sol , a pour objectif de donner une idée sur les origines et la et les caractéristiques et les principale étapes de traitement des eaux usées et la boue et aussi la microflore du sol et son rôle
- le deuxième chapitre, on donnera le matériel et les méthodes d'analyse utilisées dans cette étude .
- Dans le troisième chapitre, on présentera tous les résultats des analyses microbiologiques ainsi que leurs interprétations.

En fin de ce travail, une conclusion générale est donnée.

CHAPITRE I
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.GENERALITES SUR LES EAUX TRAITEES

I.1-Définition

Appelée encore eau résiduaire ou effluent est une eau qui a subi une détérioration après usage. La pollution des eaux dans son sens le plus large est définie comme « tout changement défavorable des caractéristiques naturelles (biologiques ou physico-chimiques) dont les causes sont directement ou indirectement en relation avec les activités humaines » (Anonyme, 2004).

L'aspect des eaux résiduaires fraîches est celui d'un liquide brun gris avec une odeur typique, mais faible. Durant leur transport, ces eaux se modifient d'autant plus vite que la température est élevée ; elles deviennent noires et dégagent une odeur d'œufs pourris, signe de la présence d'hydrogène sulfureux (H₂S), dangereux pour les égoutiers et corrosifs pour le béton et les aciers des égouts. Environ un tiers des matières contenues est en suspension, le reste est en solution (Djermakoye, 2005).

I.2-Biotechnologies appliquées dans le traitement des eaux usées:

I.2.1-Grandes étapes du traitement:

Les méthodes de traitement des eaux usées sont diverses et peuvent être classées en trois catégories : les traitements primaires, secondaires et tertiaires. On peut également tenter une classification physique et biologique qui revient grossièrement à distinguer d'un côté les traitements primaires et de l'autre les traitements secondaires et tertiaires (Maharzi et Oularbi, 2017).

I.2.1.1-Prétraitement

Se poursuit par l'élimination des particules denses ou abrasives ; cette étape est souvent couplée avec l'élimination des flottants, et en particulier des graisses, la pollution présente dans les eaux résiduaires, une fois prétraitées, se compose d'une fraction de fines particules qui n'ont pas été arrêtées par le dégrillage ou le tamisage et des molécules organiques et minérales en solution vraie ou colloïdale. En règle générale, l'élimination de MES est obtenue par décantation gravitaire alors que celle de la pollution soluble subit une dégradation biologique, mais pour certaines stations d'épuration, l'élimination de MES est réalisée dans l'ouvrage du traitement biologique (Grosclaude, 1999)

I.2.1.2-Traitements physico-chimiques : traitements primaires

Le traitement primaire au sens strict est un traitement physico-chimique. Il est possible d'ajouter dans l'eau des agents coagulant et flocculant. On peut alors récupérer un grand nombre de particules en suspension par décantation ou flottation (boues physico-chimiques). Cette étape permet d'éliminer 90% des particules et objets en suspension. Elle est commune à une très grande majorité des stations d'épuration(Attab,2011).

I.2.1.3-Traitement secondaire

Les traitements secondaires également appelés traitements biologiques visent à dégrader la matière organique biodégradable contenue dans l'eau à traiter. Des micro-organismes mis en contact avec l'eau polluée assimilent la matière organique qui, leur sert de substrat de croissance. L'ensemble de la pollution avec les micro-organismes forme la liqueur mixte ou boue biologique contenue dans les bassins de traitement biologique. En règle générale l'élimination complète de la pollution organique de ces bassins se déroule en conditions aérées par des souches aérobies strictes ou facultatives. Plusieurs procédés existent à ce stade du traitement biologique. Ce sont les procédés à culture en suspension ou procédés à boues activées, les procédés à culture fixée (disques biologiques rotatifs, lit bactériens, etc), les procédés à décantation interne (lagunage), les techniques d'épandage irrigation, etc... (Maharzi et Oularbi, 2017).

•Traitement secondaire anaérobie

Le traitement secondaire anaérobie est un processus microbiologique de conversion de la matière organique, faisant intervenir essentiellement des populations bactériennes, ainsi que des protozoaires et quelques champignons anaérobies (Effebe, 2009).

•Traitement secondaire aérobie

Les bactéries utilisées exigent un apport permanent d'oxygène. Deux grandes familles peuvent être distinguées : les procédés à cultures fixes (microorganismes fixés sur des supports), les procédés à culture libre (micro-organismes maintenus en suspension dans le mélange à épurer (Degromont,2005)

• Traitements tertiaires

Certaines rejets d'eaux traitées sont soumis à des réglementations spécifiques

concernant l'élimination d'azote, de phosphore ou des germes pathogènes, qui nécessitent la mise en oeuvre de traitements tertiaires. Il regroupe toutes les opérations physiques et chimiques qui complètent les traitements primaires et secondaires (**Ouali , 2001**).

Les eaux usées bénéficiant d'un traitement tertiaire contiennent si peu de nutriments qu'elles ne peuvent permettre une forte croissance microbienne. Le traitement tertiaire est la méthode la plus complète pour traiter les eaux d'égouts, mais elle n'a été généralisée en raison de son coût (**Attab,2011**).

I.3-Réutilisation des eaux usées en agriculture

Les eaux usées sont de plus en plus utilisées par l'agriculture des pays en développement et des pays industrialisés. Cette utilisation est motivée principalement par :

- la rareté grandissante des ressources en eau et les tensions de plus en plus fortes sur ces ressources ; la dégradation des sources d'eau douce résultant de l'élimination incorrecte des eaux usées;
- la croissance démographique et l'augmentation résultante de la demande en nourriture et en fibres;
- la prise de conscience grandissante de la valeur en tant que ressource des eaux usées et des nutriments qu'elles contiennent;
- les objectifs du Millénaire pour le développement (OMD), en particulier ceux visant à garantir la pérennité de l'environnement et l'élimination de la pauvreté et de la faim(**OMS,1989**).

I.4-Réutilisation des eaux usées

I.4.1-Bilan mondial

Pendant les dernières années, la réutilisation des eaux usées a connu un développement très rapide avec une croissance des volumes d'eaux usées réutilisées de l'ordre de 10 à 29 % par an, en Europe, aux États Unis et en Chine, et jusqu'à 41 % en Australie. Le volume journalier actuel des eaux réutilisées atteint le chiffre impressionnant de 1,5 - 1,7 millions de m³ par jour dans plusieurs pays, comme par exemple en Californie, en Floride, au Mexique et en Chine (**Dadi,2010**).

I.4.2-Cas de l'Algérie

En Algérie, 60 % des eaux usées traitées sont rejetées soit loin des périmètres d'irrigation et des barrages soit en mer, ce qui rend leur réutilisation en irrigation peu rentable. Ainsi, seulement 240 millions de m³ sont potentiellement utilisables en irrigation en raison de la localisation des points de rejet. Un programme de réalisation et de modernisation d'ouvrages de traitement destinés à la réutilisation des eaux usées en irrigation est actuellement mis en œuvre. Le ratio entre la réutilisation des eaux usées et l'affectation des ressources permet d'estimer la contribution de la réutilisation des eaux usées en irrigation. Cette contribution est de 13,37 % dans le cas de la région hydrographique Chelif-Zahrez, de 21,4 % dans la région hydrographique Constantine-Seybousse-Mellegue, et de 34,92 % dans la région hydrographique Oranie-Chott Chergui. Cette dernière est nettement déficitaire en pluviométrie par rapport aux autres régions du Nord algérien (400mm/an environ). La composante réutilisation des eaux usées en irrigation devient même prépondérante avec un ratio de 45%, voire 100% dans le cas du périmètre de Mléta dans la région de l'Oranie de l'Ouest algérien (**Hartani,2004**).

I.5-Enjeux de la réutilisation des eaux usées**I.5.1-Enjeux environnementaux**

De par leur charge en différents types de polluants, les eaux usées rejetées directement dans le milieu naturel constituent un risque sur les ressources naturelles et l'environnement. Néanmoins, une fois épurées adéquatement, les eaux usées pourraient être une source d'eau pour les secteurs connus pour leur forte consommation d'eau, comme l'agriculture (**Dadi ,2010**).

En fait, le recyclage des eaux usées traitées permettrait de générer une grande quantité d'eau qui serait disponible pour le secteur agricole. L'usage des eaux usées traitées pour l'irrigation peut également aider à améliorer les rendements agricoles à cause de certains composés résiduels présents dans les eaux après leurs traitements. Généralement, ces eaux sont riches en certains éléments nutritifs et en matières organiques comme l'azote minéral, l'azote organique, le phosphore et les micronutriments. Ces derniers sont importants à la fois pour augmenter la fertilité et la structure du sol et la productivité agricole. Cela permettrait de remplacer, en partie, l'usage d'engrais minéraux (**Khouri etal.1994**).

I.5.2 Enjeux économiques

En plus des avantages environnementaux, les eaux usées épurées pourraient avoir un impact économique positif sur les agriculteurs. À la suite de la forte demande d'eau dans le secteur agricole, l'acheminement de l'eau traitée vers les champs agricoles diminuerait les incidences négatives causées par l'utilisation d'eaux propres en irrigation. En fait, l'irrigation peut avoir une incidence sur l'économie des agriculteurs pauvres, surtout lorsque l'égalité d'accès aux terres et à l'eau est absente, en plus des coûts élevés des ouvrages de transfert et de pompage d'eau agricole. Dès lors, les eaux traitées pourraient diminuer toutes ces dépenses et rendraient l'irrigation moins coûteuse et à la portée des agriculteurs locaux, ce qui leur permettrait d'investir leur argent dans la diversification des cultures et de s'orienter vers une agriculture à grande valeur ajoutée et plus durable. Cela augmenterait aussi la valeur foncière des terrains irrigués, en assurant des bénéfices économiques importants aux agriculteurs. Même les responsables de l'assainissement et du traitement des eaux pourraient bénéficier du prix de vente de l'eau traitée et des produits dérivés au lieu de la rejeter directement dans le milieu naturel (**Lazarova et Brissaud, 2007**).

I.5.3 Enjeux sociaux

Bien que la réutilisation des eaux usées traitées ait été appliquée et bien acceptée depuis plusieurs décennies dans les régions rurales et urbaines de certains pays à cause de la croissance démographique, elle a toujours soulevé des questions socioculturelles. Dès lors, une variation dans les croyances, les coutumes et les valeurs peut influencer l'acceptabilité culturelle de cette nouvelle source d'eau. L'appui du public est un enjeu déterminant dans les projets de gestion de l'eau, surtout dans les pays où les sources d'eau sont disponibles et abondantes, d'où l'importance de concevoir un système de communication et de sensibilisation pour les personnes impliquées dans cette réutilisation (**Marsalek et al.2002**).

II.GENERALITES SUR LES BOUES

II.1-Nature et origine

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

- Les boues issues d'un traitement primaire : elles sont produites par une simple décantation des Matières En Suspension (MES) contenues dans les eaux usées ; 70 %des MES peuvent ainsi êtreretenues.
- Les boues issues d'un traitement physico-chimique : variante du type précédent, les matières organiques particulaires ou colloïdales contenues dans les eaux usées sont agglomérées par addition d'un réactif coagulant (sels de fer ou d'aluminium) ; 90 %des MES peuvent ainsi être captées. Séparées par décantation, lesboues obtenues renferment une partie importante de sels minéraux issus des eaux brutes et de l'agentcoagulant.
- Les boues d'un traitement biologique : ces boues sont essentiellement formées parles résidus de bactéries "cultivées" dans les ouvragesd'épuration.

Ces bactéries sont nourries des matières organiques contenues dans les eaux usées et les ont digérées (**Azzabi ,2012**).

II.2-Principales étapes de traitements de boues

Quel que soit le mode d'épuration des eaux, les boues sont initialement constituées d'eau (99%), de matière organique fraîche très fermentescible, et des matières minérales dissoutes ou insolubles. La matière organique qui représente 35 à 85 % de la matière sèche est constituée essentiellement de cadavres de bactéries et leurs substances toxiques.**(Ati,2010)**

Selon le but de leur utilisation, des traitements complémentaires leur sont appliqués pour :

- Réduire leur teneur en eau est ceci dans le but de réduire leur volume et d'éviter la putréfaction de la matière organique facilement décomposable;
- Stabiliser la matière organique en diminuant sa fermentescibilité pour réduire au moins et supprimer les mauvaises odeurs;
- Pour les hygiéniser si nécessaire en détruisent les micros organismes pathogènes.**(Ati,2010)**.

II.2.1-Procédés de réduction de la teneur en eau:**II.2.1.1-Lit de séchage**

Pour des raisons d'hygiène et afin de ne pas créer des odeurs désagréables, on utilise des lits de séchage ; on élimine en grande partie ou, en totalité l'eau par évaporation : Soit par voie naturelle (lits de séchage) soit par voie thermique. La technique des lits de séchage se pratique à l'air libre sur des boues liquides et combine l'évaporation naturelle et le drainage de l'eau libre à travers une couche filtrante de sable ou de graviers ; l'emprise au sol est de 1m² pour 4 à 5 habitants raccordés. Ce système extensif donne des boues solides à 35 – 40 % de siccité mais reste fort dépendant des conditions météorologiques(Ati , 2010).

II.2. 1.2. Epaissement

Il vise l'augmentation de la siccité des boues sans pour autant modifier le caractère liquide de la boue, ce procédé peut se faire par voie gravitaire dans un concentrateur ou par des moyens mécaniques (égouttage – flottation – centrifugation). La siccité des boues ne dépasse pas 7%(Ati ,2010).

II.2.1.3. Déshydratation

Elle correspond en fait à une forte augmentation de la siccité, et modifier l'état physique des boues, celles-ci passent de l'état liquide à l'état pâteux ou solide. Les filtres à bandes et les centrifugeuses donnent des boues plutôt pâteuses en raison de la performance de déshydratation qui plafonnent de 18 à 20 % de siccité pour la première famille de matériels, et de 20 à 25 % pour la seconde. Les filtres presses produisent par contre des boues de structures solides 30- 35 % de siccité, en conjuguant un conditionnement au lait de chaux et des pressions élevées(Ati,2010).

II.2.2. Stabilisation des boues

Dans la stabilisation biologique, les boues primaires et les boues activées en excès sont souvent mélangées, elles présentent une tendance à la fermentation, on aère ce mélange avec l'air ou de l'oxygène, on assiste alors à une minéralisation de la matière organique en CO₂. Ce procédé permet l'élimination de certains parasites. Cette technique résume la digestion aérobie, tandis que pour la digestion anaérobie permet une production des gaz combustibles.

Elle consiste à favoriser le développement des bactéries méthanifères qui agissent en anaérobie sur la matière organique en la décomposant en produisant le méthane, ce procédé peut être important pour certaines cultures lorsqu'on prévoit l'utilisation agricole.

La stabilisation non biologique ou chimique comporte la pasteurisation, et le traitement à la chaux. La pasteurisation consiste à l'injection de vapeur à une température de 80 ° durant 30 mn (**Gamrasni, 1981**).

II.3-Composition des boues

La composition exacte des boues varie en fonction de l'origine des eaux usées, de la période de l'année, du type de traitement et de conditionnement pratiqué dans la station d'épuration. Les boues résiduaires représentent avant tout une matière première composée de différents éléments (matière organique, éléments fertilisants (N et P ...), d'éléments traces métalliques, d'éléments traces organiques et d'agents pathogènes) (**Abdelmoumene, 2011**).

II.3.1-Matières organiques

La concentration en matière organique peut varier de 30 à 80 %. La matière organique des boues est constituée de matières particulaires éliminées par gravité dans les boues primaires, des lipides (6 à 19 % de la matière organique), des polysaccharides, des protéines et des acides aminés (jusqu'à 33 % de la matière organique), de la lignine, ainsi que des produits de métabolisation et des corps microbiens résultant des traitements biologiques (digestion, stabilisation) (**Abdelmoumene, 2011**).

II.3.2-Eléments fertilisants et amendements

Selon la dose appliquée, les boues peuvent couvrir, en partie ou en totalité, les besoins des cultures en azote, en phosphore, en magnésium, calcium et en soufre ou peuvent aussi corriger des carences à l'exception de celle en potassium. Les éléments en traces tels que le cuivre, le zinc, le chrome et le nickel présents dans les boues sont aussi indispensables au développement des végétaux et des animaux (**Albrechtco, 2007**).

II.3.3-Contaminants chimiques inorganiques et organiques

Ces mêmes éléments traces métalliques (cuivre, zinc, chrome et nickel) indispensables au développement des végétaux et des animaux peuvent se révéler toxiques à trop fortes doses. D'autres, tels que le cadmium et le plomb sont des toxiques potentiels. Ainsi, un polluant

peut être défini comme un élément ou un composé chimique ordinaire dont la nocivité n'apparaît qu'à partir d'une certaine concentration (**Amir, 2005**).

II.3.4-Micro-organismes

Les boues contiennent des microorganismes vivants qui jouent un rôle essentiel dans les processus d'épuration. Seul une infime partie est pathogène (virus, bactéries, protozoaires, champignons, helminthes, etc.) et provient en majorité des excréments humains ou animaux)(**Amir,2005**).

II.4-Intérêt agronomique des boues

Riches en matières organiques, parfois en calcium ainsi qu'en certains éléments fertilisants les déchets urbains sont potentiellement intéressants pour améliorer les propriétés des sols. Les boues agissent comme un catalyseur de la biologie du sol et non pas seulement un engrais.

C'était surtout la valeur fertilisante azotée et phosphatée des boues résiduelles qui motivait leur utilisation. La teneur en azote et en phosphore représente 3 à 7 % de la matière sèche (**Pisson ,2000**).

- **Azote**

L'azote présent dans les boues de station d'épuration se trouve principalement sous forme organique et n'est disponible pour la plante qu'après minéralisation de la matière organique(**Pisson ,2000**).

- **Phosphore**

Le phosphore contenu dans les boues se trouve essentiellement sous forme inorganique et constitue dans le sol un pool lentement utilisable pour la végétation(**ADEME ,1997**).

- **Matière organique**

- La matière organique améliore la qualité physique du sol:

Elle améliore ou stabilise la structure du sol;

La matière organique améliore la qualité chimique:

- Les colloïdes thermiques augmentent la capacité d'échange du sol;

La matière organique dans l'ensemble est par leur décomposition, une source d'éléments nutritifs pour la plante.(**Pisson,2000**)

– Les matières organiques stimulent l'activité biologique:

Elles servent de support et d'aliment pour la faune et la flore du sol dont dépend la bonne nutrition des plantes(**Pisson,2000**)

- **Calcium**

Le calcium remplit un rôle important, tant au niveau du sol que la plante, il stabilise et améliore la structure du sol. Le calcium permet de maintenir le pH du sol entre les limites favorables à l'activité biologique et à l'assimilation des éléments nutritifs (**Soltner,2005**).

III.LA MICROFLORE DU SOL

Les organismes vivant du sol sont des bactéries, des champignons, des algues, les parties souterraines des plantes ainsi que des animaux très variés. Tous participent d'une manière ou d'une autre à la formation et à l'évolution de sol (**Gobet et al.2003**).

III.1-Microflore du sol

III.1.1-Bactéries

Le sol constitue le milieu naturel de toute une série d'espèces aérobies. Dans l'ordre des Pseudomonales et Eubactériales, on retrouve les principaux genres vivants dans le sol. Les bactéries du sol ont une grande variété de formes. Elles peuvent être mobiles ou immobiles, et posséder ou non des formes de résistance (spores, kystes) Elles prolifèrent dans les milieux les plus riches en N, et peu acides ; elles sont surtout abondantes autour des racines de certaines plantes (graminées, légumineuses), au sein de la rhizosphère. La plupart d'entre elles sont hétérotrophes et saprophytes (**Bedjaj,2011**).

III.1.1.1-Rôle dans lesol

Par leur durée de vie, ces derniers constituent une fraction importante de la matière organique humifiée. Elles sont participantes à la formation des microagrégats. Mais c'est avant tout par leurs fonctions biogéochimiques, telles la minéralisation de la matière organique, la précipitation de minéraux, la transformation de certains composants organiques en humine (**Gobat et al.2003**).

III.1.2-Actinomycètes

Les actinomycètes sont un groupe d'eubactéries Gram-positives. La plupart d'entre elles se trouvent dans le sol, et elles comprennent quelques-uns des principaux acteurs de la vie du sol, y jouant un rôle important dans la décomposition des matières organiques, comme la cellulose et la chitine. C'est le regroupement des bactéries sous forme d'arbre qui utilise ses cystes, ici des endospores, afin de résister à un milieu nutritif défavorable (par exemple, présence de myxomycètes dans le milieu) (**Benali,2014**).

D'après Roger et Garcia, (2001) les caractéristiques principales de genres d'Actinomycètes fréquents dans les sols :

- **Nocardia**: Filaments qui se fragmentent rapidement en unités bactériiformes. Les filaments se développent rarement au-dessus du milieu de culture;
- **Streptomyces**: Longues chaînes de spores formées sur des filaments qui se développent au-dessus du milieu de culture. De nombreuses espèces produisent des antibiotiques;
- **Streptosporangium** : Spores formées dans des sporanges ou en chaînes sur les filaments au-dessus du milieu.
- **Micromonospora** : Les filaments ne se développent pas au-dessus du milieu. Spores uniques produites dans ou à la surface du milieu.

III.2.1.1-Rôle dans le sol

Leur rôle dans le sol est important, grâce à leur capacité de dégrader des molécules complexes non biodégradables par les champignons ou les autres bactéries, telle que la chitine. En raison de leur aptitude à dégrader la chitine, de très nombreux Actinomycètes sont capables de décomposer les membranes des champignons et peuvent ainsi poursuivre la dégradation de la matière organique entreprise par la microflore fongique contribuant ainsi à la fertilisation des sols et en plus ils produisent de nombreuses métabolites. Les actinomycètes pourraient aussi intervenir dans les processus d'humification en produisant des composés proches des acides humiques (**Bedjadj,2011**).

III.1.3-Champignons

Les champignons du sol ou mycètes sont des levures, des champignons supérieurs et surtout des moisissures des genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Cladobotryum*, *Mucor*, *Trichoderma* mais à la différence des bactéries, ils sont toujours hétérotrophes et aérobies(**Soltner, 2005**).

De toute dimension, les champignons résistent mieux que les bactéries à la sécheresse et à l'acidité.

III.1.3.1-Rôle dans le sol

Leur rôle est important dans la dégradation de substances résistantes comme la lignine. Le champignon peut aussi contracter au niveau des racines des symbioses mycorhiziennes, dont les actions peuvent se révéler bénéfiques pour les végétaux.

Par sa taille et sa structure, un mycélium est à même de transporter activement des quantités importantes d'eau et de substance d'un endroit à l'autre du sol (**Gobat et al .2003**).

III.1.4-Algues

Leur chlorophylle les rend autotrophes (Soltner, 2005). Unicellulaire ou en colonies filamenteuses, les algues sont souvent abondantes dans le sol, mais restent localisées à la surface ou dans les larges fissures (Gobat et al. 2003).

III.1.4.1-Rôle dans le sol

Grâce à leur activité photosynthétique, les algues colonisent rapidement les surfaces minérales brutes, dont elles accélèrent l'altération par des substances dissolvantes. (Gobat et al.2003).

Les algues participent aussi à la cohésion les particules solides à travers la production des polysaccharides extracellulaires (Gobat et al.2003).

Elles protègent les environnements arides ou désertiques contre l'érosion en formant des croûtes à la surface du sol (Dommergues,1965).

III.2-Pratiques agricoles et risque de transfert des bactéries pathogènes dans lesol**III.2.1-Effluents d'élevage et matières fécales**

Les animaux d'élevage, sains ou malades, peuvent être porteurs d'une grande partie des bactéries pathogènes. Salmonella spp., L. monocytogenes.etE. coli peuvent être rencontrés dans les matières fécales animales. Les bactéries telles queE. coli non pathogène et E. faecalis sont également présentes dans les fèces et les effluents d'élevage en temps qu'hôtes du tractus digestif. L. monocytogenes est retrouvé dans les excréments d'une grande variété des espècesd'animaux sains. L'incidence et les concentrations de ces bactéries pathogènes dans les fèces et les effluents d'élevage peuvent donc varier en fonction de l'espèce animale (Johsen et al.2001).

III.2.2-Boues de station d'épuration

Les boues de station d'épuration sont considérées comme des déchets et peuvent être éliminées par incinération mais elles peuvent également être valorisées par épandage sur les sols agricoles. L'épandage permet de recycler une partie des boues et de profiter de leurs propriétés fertilisantes, en bouclant le cycle de la matière organique par retour vers le sol. Cette pratique est strictement encadrée du point de vue sanitaire et environnemental. Il faut en effet s'assurer, d'une part, de l'aptitude des sols à remplir cette fonction environnementale de recyclage et d'autre part, de l'innocuité des épandages de boues vis-à-vis des sols, de la chaîne

alimentaire et des autres compartiments de l'environnement (**Dumontet et al.2001**).

III.2.3-Irrigation

Quelle que soit leur origine (domestique, industrielle, agricole ou pluviale), les eaux usées non traitées sont généralement contaminées par des microorganismes pathogènes dont la plupart sont des bactéries. Les eaux usées peuvent contenir des bactéries pathogènes provenant initialement des matières fécales humaines et animales (**Toze,1997**).

Les eaux usées doivent être traitées avant leur recyclage et doivent répondre à des normes microbiologiques.

III.3-Cycles biogéochimiques

III.3.1-Cycle de l'azote

Cycle de l'azote se particularise par sa grande complexité et le nombre important de molécules différentes y jouant un rôle. Ainsi on distingue plusieurs formes minérales – azote moléculaire (N_2), ammoniac (NH_3), nitrite (NO_2^-), nitrate (NO_3^-), ammonium (NH_4^+), oxyde nitrique (N_2O) et oxyde nitreux (NO) mais aussi des formes organiques très variées (acides aminés, urée, acide urique, protéines, etc...) ; chaque forme ayant un rôle particulier dans l'écosystème. L'azote est majoritairement présent sous forme gazeuse dans l'atmosphère (80%), (**Diarra,1999**)

Pour la majorité des végétaux, l'azote est un élément fortement limitant car peu disponible. Son acquisition se fait principalement selon deux voies d'entrées : le sol à travers l'assimilation des formes minérales ou l'atmosphère à travers la fixation de l'azote moléculaire (**Schmann, 2005**).

III.3.1.1-Fixation d'azote atmosphérique

Correspond à la conversion de l'azote atmosphérique en azote utilisable par les plantes et les animaux. Elle se fait par certaines bactéries qui vivent dans les sols ou dans l'eau et qui réussissent à assimiler l'azote diatomique N_2 . Il s'agit en particulier des cyanobactéries et de certaines bactéries vivant en symbiose avec des plantes (entre autres, des légumineuses) (**Diarra,1999**)

III.3.1.2-Transformation de l'azote dans le sol

Le cycle de l'azote rend compte de transformation et de la simplification des composés azotés complexes fournis au sol, jusqu'au stade d'azote minéral utilisable par la plante (**Boullard et**

Morceau, 1962).

Un autre processus majeur de ce cycle biogéochimique est la minéralisation, qui correspond à la phase de décomposition de la matière organique aboutissant aux nitrates. Une des étapes clé est effectuée par les bactéries nitrifiantes, seuls organismes capables d'oxyder les ions ammoniums en nitrates facilement assimilables par les plantes et les microorganismes.

Enfin, un autre processus clé est la dénitrification, qui boucle le cycle et qui correspond à la réduction des nitrites et nitrates en azote moléculaire (Schimann, 2005).

- **Nitrification**

La nitrification est un processus contrôlé par l'action de certains micro-organismes spécifiques, qui conduit à la transformation de l'ammoniaque ou de l'ammonium en nitrate(Diarra,1999).

La réaction de la nitrification se fait en deux étapes :

La nitrification qui est l'oxydation de l'ammonium en nitrites, et la nitrification qui est l'oxydation des nitrites en nitrates. (Diarra,1999).

- La réaction denitrification**

Selon Mabrouk, (2009) la réaction de nitrification (oxydation de l'ammonium) est réalisée par les bactéries nitrifiantes (Nitrosomonas, Nitrosococcus ,Nitrosopira etc.) est décrite par l'équation suivante :

Nitrosomonas



- La réaction denitrification**

C'est l'oxydation de NO₂ en NO₃. C'est le fait des ferments nitriques(type

Nitrobacter, Nitrocystis, Bactoderma, Microderma)(Mabrouk,2009).

- La dénitrification**

Les nitrates ainsi formés sont absorbés par les végétaux et transformés en acides aminés puis en protéines. Après la mort des organismes,les protéines vont être décomposées par des

bactéries et des acides aminés transformés par diverses bactéries en ammoniac. Celui-ci peut subir une nitrosation qui l'oxyde en NO_2^- (nitrite) lequel peut être à son tour réduit en NO et même N(diazote) par des bactéries dénitrifiantes(Mabrouk,2009). La dénitrification demeure essentiellement dans le sol le fait d'une activité biologique définie, due à l'intervention d'espèces microbiennes dénitrifiantes, sont des bactéries appartenant aux genres (Bacillus, Pseudomonas, Achromobacter...). Elle se produit à deux conditions:

La présence d'azote sous forme nitrique ou nitreuse;

Une teneur suffisante en substances organique en **décomposition** (Dari ,2013)

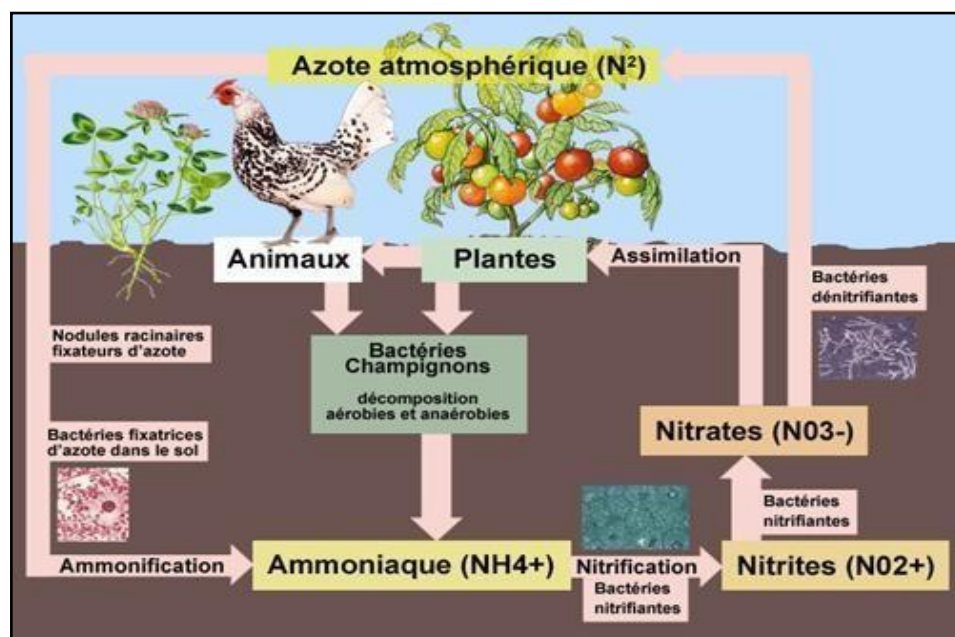


Figure 1:Cycle de l'azote (Dari,2013)

III.3.2-Cycle de carbone

Le carbone est un des éléments biogènes majeur. Deux phénomènes biologiques fondamentaux conditionnent et régulent la circulation du carbone dans la biosphère, il s'agit de la photosynthèse et de la respiration. Les microorganismes autotrophes (photosynthétiques et chimiolithotrophes) convertissent le CO_2 en composés organiques ; cette production primaire nette est alors disponible pour les consommateurs hétérotrophes qui, en respirant, convertissent la matière organique en CO_2 (Cebon, 2004).

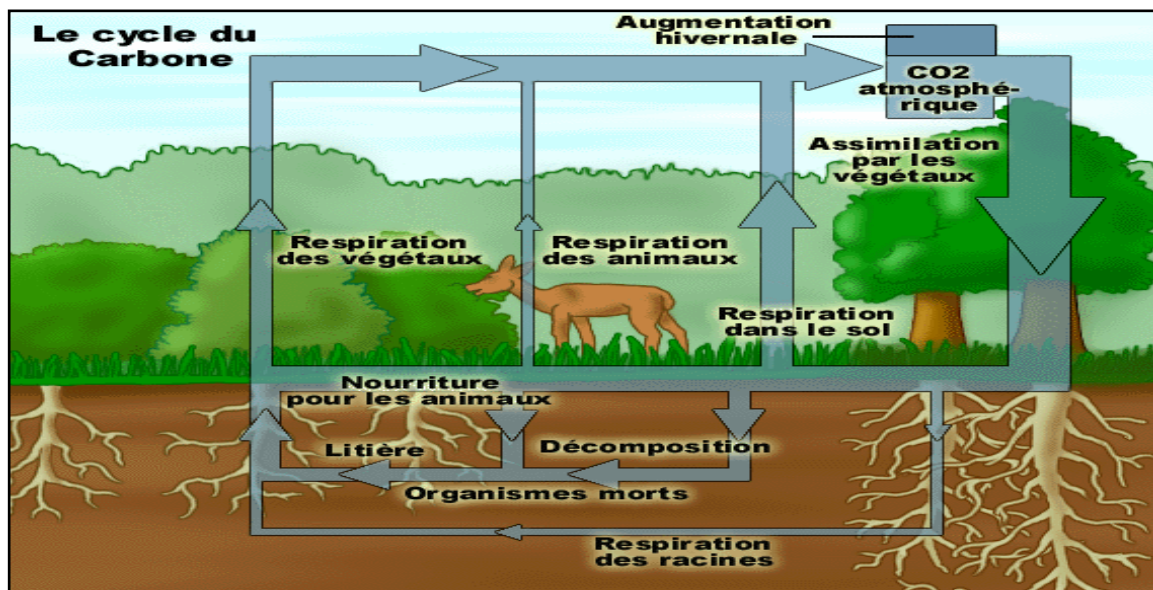


Figure 2 : cycle de carbone (Dari,2013)

III.3.3-Cycle de soufre

La réserve de soufre de la biosphère se trouve dans les roches sédimentaires (sulfates). Les plantes et la plupart des microorganismes utilisent directement le soufre sous forme de sulfate. Le soufre retourne au sol avec les protéines contenues dans les résidus et cadavres végétaux, animaux et microbiens ; il s'intègre à la fraction organique non humifiée, puis en partie à l'humus. Le soufre organique du sol est ensuite minéralisé plus ou moins rapidement sous forme de sulfure d'hydrogène (H₂S) par de nombreux microorganismes. H₂S est oxydé à son tour et donne des sulfates sous l'action de bactéries chimiolithotrophes appartenant essentiellement au genre Thiobacillus. Les transformations consistant dans l'utilisation des sulfates par la microflore sont, comme dans le cas de l'azote, désignées sous le terme d'immobilisation. De même que les nitrates peuvent être réduits par voie microbienne (dénitrification), de même les sulfates ou le soufre élémentaire peuvent être réduits en H₂S. Ce processus, désigné sous le nom de sulfatoréduction, est le fait de micro-organismes appartenant à différents genres dont Desulfovibrio, Desulfotomaculum et Desulfomonas. L'écosystème sol-plante s'enrichit ou s'appauvrit en soufre essentiellement au travers de processus non biologiques : apports par les eaux météoriques et les engrais, pertes par exportation par les récoltes, le lessivage, l'érosion ; les pertes d'origine biologique (émission d'H₂S) sont en général insignifiantes (Dommergues,2005).

III.4. Rôle de microorganismes dans la structure du sol :

Les microorganismes du sol influencent différemment la stabilité de la structure d'un sol

en fonction de leur type, de leur activité et de leurs produits de synthèse.

Les microorganismes présentent entre eux des différences d'efficacité en ce qui concerne leur aptitude à induire l'agrégation et à la maintenir.

Les champignons sont efficaces dans la stabilisation des agrégats de sol, car ils ont la capacité de lier les particules du sol via plusieurs mécanismes (rétention mécanique, adhésion par les glues fongiques, ...). En effet, de nombreux champignons secrètent des substances agrégeant à fort pouvoir collant comme les polysaccharides et les gommes. Les mycéliums des champignons consolident également directement la structure du sol par enchevêtrement mécanique des particules minérales entre les hyphes et/ou par la résistance mécanique des filaments fongiques aux contraintes physiques(**Annabi, 2005**).

Les bactéries interviennent plutôt dans la stabilisation des particules de la taille des argiles et des limons. Elles synthétisent des substances gluantes telles que les polysaccharides et peuvent constituer le centre de formation des microagrégats(**Robert et Chenu, 1992**).

Plusieurs types de bactéries ont été identifiés comme intervenant dans la stabilité des agrégats, ont noté le rôle positif des cyanobactéries dans la stabilisation des agrégats des sols sableux. L'action des Actinomycètes est semblable à celle des champignons à mycélium mais avec une moindre importance car dans le sol, les Actinomycètes sont moins fréquents que les champignons.

Les Algues agrègent les particules élémentaires en surfaces des profils et contribuent ainsi en association avec les Champignons filamenteux ainsi qu'à la formation de croûtes (structure continue) notamment sur les sols sableux(**Bedjaj,2011**).

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

1. Présentation de la station d'épuration de la ville de Ain Defla:

1.1-situation géographique

La station d'épuration d'Ain Defla est située au nord de la wilaya d'Ain Defla, à 145km au sud-ouest d'Alger elle est implantée dans la commune d'Ain Defla. Elle a été mise en service en avril 2007, elle est située au nord du chef-lieu de la ville de Ain Defla, située à proximité de l'oued de chéfif et environ 800m de l'axe routier de RN4, limitée au sud ouest et par des terrains agricoles **(Rahmoni et al,2009)**.

1.2Caractéristiques de la STEP d'Ain Defla

Le principal but projeté par l'épuration des eaux usées de la ville d'Ain Defla est l'amélioration de l'environnement par la suppression de rejet en eaux usées de surface et notamment de l'Oued Cheliff (ONA, 2005), prévient l'éventualité de situations esthétiques désagréables. Ainsi que la protection des nappés d'eau souterraines de la contamination par l'eau polluée et la réutilisation des eaux usées traitées par la STEP à des fins agricoles.

La station d'épuration d'Ain Defla est rentrée en exploitation en 2008. Elle est conçue pour épuré une quantité d'eau estimée à 9157 m³/j. Le procès consiste en une épuration biologique par boues activées à faible charge, avec stabilisation aérobie **(Benahacene A et Benzina H,2018)**

1.3.-Description et fonctionnement de la station

La plupart des stations d'épuration fonctionnent selon les mêmes processus de base, mais des différences plus ou moins importantes peuvent exister dans la manière de mettre en place des processus. Le traitement se divise généralement en plusieurs étapes.

La station d'épuration d'Ain Defla est de types boues activées à faible charge, d'une capacité de 50 000 Equivalents – habitants, soit un débit nominal de 12900 m³/présent un bon état de fonctionnement. La charge de pollution à l'entrée de STEP : (MES 398 mg/l, DBO₅ : 300 mg/l, DCO : 700 mg/l) et la sortie de STEP : (MES : 30 mg/l, DBO₅ : 30-40 mg/l, DCO : 90-120 mg/l). Le rendement d'élimination : sur MES 80%, MO 85%.

La filière de traitement compte un dégrilleur grossier, un dégrilleur fin, un dessableur- déshuileur, deux bassins biologiques avec six aérateurs chacun, deux clarificateurs, un épaisseur et 20 lits de séchage pour la déshydratation naturelle (Benahacene A et Benzina H,2018)

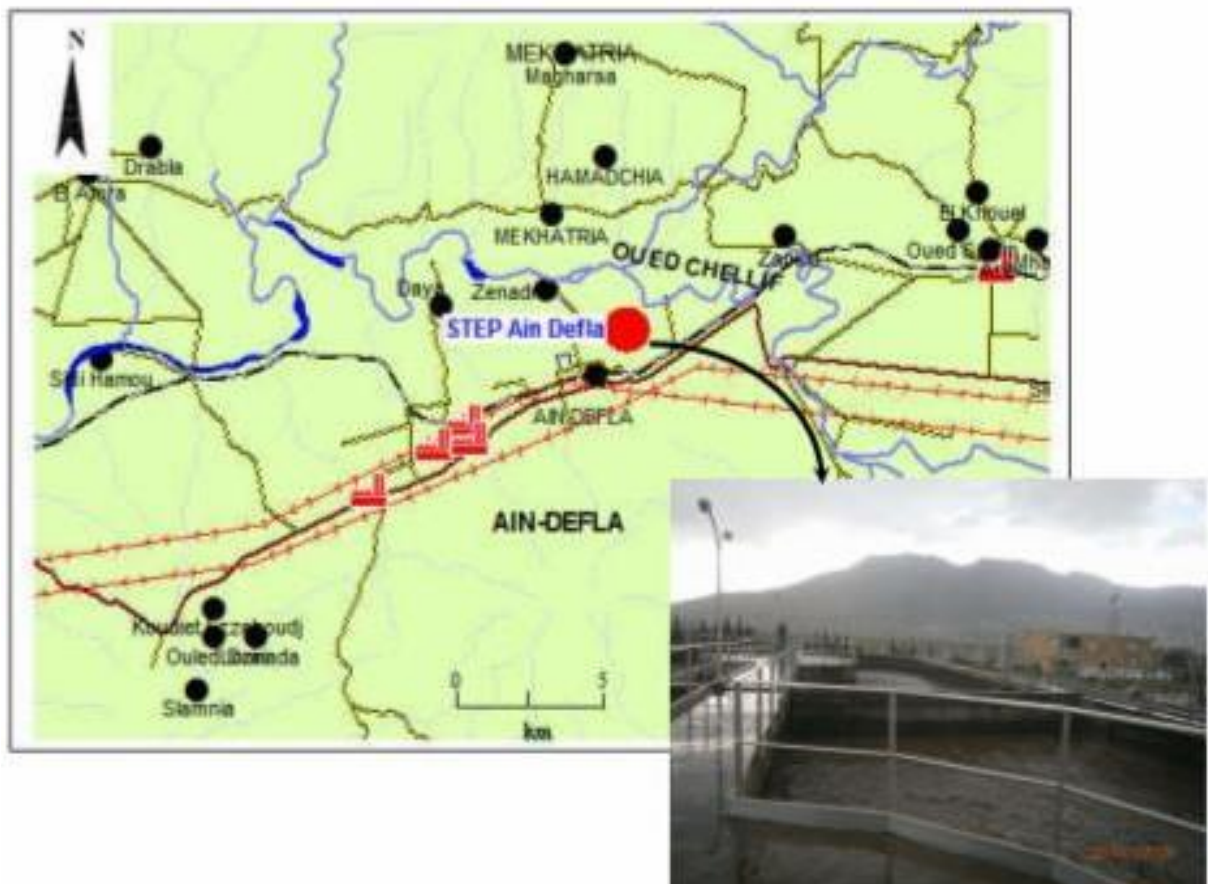


Figure 03 : Plan de la situation géographique de la STEP d'Ain Defla

2. Echantillonnages

2.1-source d'échantillonnage

Notre étude a été menée sur :

-des échantillons du sol prélevés des parcelles qui se situe dans la ville de Ain defla



Figure 04 : Situation géographique de terrain de prélèvement du tomate

-un échantillon de tomate qui est prélevé d ITCMI Staouali



Figure 05 : Situation géographique de terrain de prélèvement du tomate

-quatre échantillons des eaux usées et la boue prélevés de la station d'épuration de la ville de Ain Defla"STEP"

2.2- Techniques d'échantillonnage:

Techniques d'échantillonnages pour les analyses microbiologiques:

2.2.1-Sol:

2.2.1.1-Echantillonnage et conservation des échantillons du sol

Avant de commencer l'échantillonnage nous devons examiner le terrain du point de vue de son uniformité, genre de sol, végétation, amendements appliqués, etc. En prélevant plusieurs échantillons pour obtenir un échantillon moyen, il faut naturellement choisir des sols

aussi uniformes que possible. Il faut les prélever dans les mêmes conditions physiques (t° , humidité) et toujours le même jour.

2.2.1.2-Horizon de prélèvement

Les échantillons sont prélevés dans la couche superficielle du sol (0-60cm). Le tableau résume l'échantillonnage :

Tableau 1 : échantillon prélevé du sol irrigué et sol épandu

Sol irrigué avec l'eau traitée	Sol épandue avec la boue
SE S1	SB S1
SE S2 témoin	SB S2 témoin
SE I 1	SB I1
SE I2 témoin	SB I2 témoin
SE III1	SE III1
SE II2 témoin	SE II 2 témoin

2.2.1.3-Conservation des échantillons

Après le prélèvement, Les échantillons des sols devant être conservés au frais (environ 4°C).Le séchage des échantillons tue une partie de la microflore et rend impossible la détermination de la biomasse microbienne .Les échantillons ont été ensuite tamisés à 5 mm pour éliminer les éléments grossiers et les débris organiques. Avant l'emploi, les échantillons du sol seront une nouvelle fois tamisés à 2mm.

2.2.2-Eau traitée

L'eau traitée provient d'un échantillonnage de la même station d'épuration des eaux usées (STEP) de la ville d'Ain Defla.

Nous avons prélevé quatre échantillons : Echantillon E1,EchantillonE 2, Echantillon E3, EchantillonE4.

2.2.2.1-Prélèvement

Les récipients utilisés ne doivent pas apporter de substances toxiques et assurer une fois bouchés une protection totale contre toute contamination extérieure. Les prélèvements sont effectués dans des flacons stériles.

2.2.2.2-Transport et conservation des échantillons

Tout flacon d'échantillonnage doit être clairement identifié et être accompagné d'informations suffisantes concernant la nature de l'échantillon et les raisons pour lesquelles l'examen est demandé. La teneur initiale en microorganismes contenus dans l'eau risque de subir des modifications après le prélèvement, c'est pour cela que toute analyse doit être effectuée le plus rapidement possible et transportés dans une glacière avec un délai maximum de 8 heures avant l'analyse(Attab ,2011).

2.2.3-Boue

2.2.3.1-Origine des boues étudiées

L 'ensemble des boues étudiées provient d'un échantillonnage de la même station d'épuration des eaux usées urbaines (STEP) de la ville de Ain Defla.

Cet échantillonnage représente quatre boues résiduares de même station, cependant, avec des durées de stockage différentes.

2.2.3.2-Description des boues étudiées

Elles sont de couleur sombre apparentant à celle d'un sol riche en matière organique, leur aspect physique est lié à leur teneur en eau, nous avons prélevé quatre échantillons

- 1erEchantillonB1 : solide (sixmois)
- 2èmeEchantillon B2 : solide (sixmois)
- 3èmeEchantillon B3 : solide (15jours)
- 4èmeEchantillon B4 : solide (15jours)

En ce qui concerne leur qualité olfactive, on a remarqué que le séchage s'accompagne d'une diminution notable de l'odeur.

3-analyse des échantillons

3.1-Analyse physico-chimique du sol

Les caractéristiques physico-chimiques influencent fortement les propriétés biologiques des sols. Des relations étroites ont d'ailleurs été mises en évidence entre les caractéristiques physico- chimiques et biologiques, et ceci aussi bien pour la microflore.

3.3.1-Humidité:

C'est la perte de poids après séchage à 105°C exprimée en pourcentage (ou pour mille) par rapport à la terre séchée à l'air %.

$$H = (P_{air} - P_{105^{\circ}C}) / P_{air} \times 100$$

Cette détermination est facile à réaliser par simple pesée après un séchage en étuve d'une durée suffisante (vérification de poids constant).

L'utilisation de capsule en verre à couvercles rodés permet d'éviter une réhuméctation au

cours du transport de l'étuve à la balance. Elle est aussi appelée "Humidité résiduelle "quantité d'eau restante (**BAIZE, 2000**).

3.3.2-Conductivité électrique:

La conductivité électrique (C.E) d'une solution du sol est un indice des teneurs en sels solubles dans ce sol.

Mesurée par un conductimètre sur des extraits dont le rapport (terre/eau) est de 1/5, le plus souvent utilisé (**CLEMENT et FRANCOISE, 2009**).

3.3.3-pH

Sur une suspension de terre fine, le rapport liquide /terre extrait du rapport 1/5 est mesuré à l'aide d'un pH mètre (**SOLTNER, 2005**).

3.2-Etude microbiologique des eaux traité, boue et sol

3.2.1-Tests communs

3.2.1.1-Recherche des salmonelles

La recherche des salmonelles a pour but, l'identification des souches qui sont à l'origine de toxi-infection alimentaire.

Le genre Salmonella appartient à la famille des Enterobactériaceae, il regroupe des bacilles à Gram positif. Les salmonelles sont pathogènes soit exclusivement pour l'homme (S. typhi) soit exclusivement pour l'animal (S.abortusovis), soit le plus souvent à la fois pour l'homme et pour l'animal.

Le protocole d'isolement des salmonelles est réalisé selon la norme EN ISO 6579 (**Hamaidi-Chergui et al., 2016**).(Annexe 9)

3.2.1.2-Mode Recherche de Clostridium sulfito-réducteur

Conformément à la norme NF T 90-415, La recherche des Clostridium Sulfito réducteurs est basée sur la recherche des formes sporulées. Pour cela, on détruit les formes végétatives par un chauffage à 80°C, puis on refroidit rapidement. L'échantillon est incorporé à un milieu VF, fondu, additionné de sulfite de sodium et d'un peu de fer. Après l'incubation de 48 à 37°C, les colonies entourées d'un halo noir sont comptées comme susceptibles de provenir de bactéries anaérobies sporulées sulfito-réductrices (**Hamaidi Chergui et al ., 2016**)

3.2.1.3-Recherche des Vibrions cholériques

Comprend des bacilles habituellement fin, légèrement incurvés, très mobiles grâce à un cil polaire.

Les vibrions cholériques sont des agents des choléras, maladie humaine généralement mortelle caractérisée par une diarrhée avec vomissement et déshydratation. On retrouve la bactérie pathogène dans l'intestin des malades, des convalescents, des porteurs de germes. De la va polluer l'eau, la terre et certains aliments qui seront à l'origine de l'épidémie.

(Annexe 10)

3.2.3-Analyse parasitologique

Cette méthode consiste à examiner directement des échantillons, en prélevant une goutte des échantillons bien agitée que l'on place entre lame et lamelle et qu'on observe au microscope

3.3-Tests microbiologiques de l'eau traitée

3.3.1-Dénombrement des coliformes:

3.3.1.1coliformes totaux

Le dénombrement des coliformes totaux se fait par la méthode de filtration membranaire un volume d'échantillon de 100 ml d'eau à analyser est filtré à travers une membrane qui retient les micro-organismes. La membrane est ensuite placée sur le milieu du TTC tergitol.

•Lecture

Après incubation à 37°C durant 24h, des colonies se forment à la surface de la membrane

•Test confirmatif

Pour effectuer une confirmation les colonies formées à la surface de la membrane sont repiquer dans un autre milieu liquide (VBL), les tubes de VBL seront ainsi incubés à 37°C durant 24h. Dans le cas positif de présence des coliformes totaux, on aura une présence du gaz dans la cloche de Durham et virage au couleur jaune.

3.3.1.2-.Escherichia Coli

Escherichia Coli fait partie du groupe des coliformes totaux et consiste le seul membre de ce groupe que l'on trouve spécialement dans les matières fécales des humaines et des animaux. Leur présence dans l'eau indique en présence de matières fécales. Elle est capable de fermenter le lactose à 44°C.

•Technique

Le principe de dénombrement s'effectue de même manière que la recherche des coliformes fécaux saupla température d'incubation dans ce cas est de 44°C/24 heure.

1er lecture : Après 24 heures, on observe des colonies jaunes.

On va faire le test confirmatif c'est-à-dire le repiquage sur un milieu liquide de Schubert muni d'une cloche de Durham et incubé à 44°C/24 heures.

• 2ème lecture : On observe un anneau rouge sur la surface de milieu avec une production de gaz dans la cloche de Durham. Donc on peut dire qu'il existe d'E. Coli dans l'eau.

• Démembrement des streptocoques fécaux:

- Filtrer 100 ml d'échantillon sur une membrane de 0.5 µm de diamètre

- Placer la membrane sur une boîte de pétri contenant du milieu Slanetz et Bartley préalablement coulé et refroidi.

- Le milieu Slanetz et Bartley et un support nutritif contenant des substances inhibitrices qui laissent se développer préférentiellement colonies de streptocoques fécaux.

- Incuber les boîtes à 37 °C pendant 24 heures.

Lecture

Après 24 heures on compte les colonies rouge violettes.

Test de confirmation

La confirmation des résultats est réalisée par l'utilisation de la gélose à la bile, à l'esculine et à l'azide de sodium (BEA). C'est un milieu utilisé pour l'isolement et le dénombrement des entérocoques et spécialement les entérocoques intestinaux.

- La bile de bœuf empêche la croissance des bactéries à Gram positif
- L'esculine provoque l'inhibition des bactéries contaminantes à Gram négatif
- Les entérocoques hydrolysent l'esculine en glucose et en esculetine, ce dernier composé forme un complexe noir en présence des ions ferriques apporté par le citrate de fer.

• A l'aide d'une pince on prélève la membrane filtrante qui contient les microorganismes puis on remplace uniquement le milieu SB par BEA.

• L'incubation est réalisée à 44°C pendant 28h à 48h.

3.4- Tests microbiologiques de la boue

3.4.1- Streptocoques fécaux

Ce sont des bactéries Gram positif, non sporulées, forme de chaînette, ils sont présents dans l'air, le sol, l'eau. Ce sont des germes aéro-anaérobie, leur présence est un indice de contamination fécale, plus ou, moins récente (Pilet, 1983)

A. Test de présomption:

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :

- 5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHED/C
- 1 ml dans un tube contenant 10 ml de milieu ROTHES/C
- 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu ROTHED/C

•Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

Incubation : Incuber à 37°C pendant 24 heures

Lecture : Après la période d'incubation les tubes de Rothe présentant un trouble microbien seront considérés comme positif.

B. Teste de confirmation

Trois gouttes prélevées de chaque tube trouvé positif seront repiquées sur un tube de eva litskey. Après 24h d'incubation à 37°C seront considérés comme positif, les tubes présentant :

-D'une part un trouble microbien.

-D'autre part une pastille violette (blanche) au fond du tube.

Il y a donc présence de streptocoques fécaux, et le résultat sera exprimé par le NPP selon la table de Mac Grady.

•Coliformes

Ce sont des bactéries de la famille Enterobactéraceae, Gram négatif, de forme de bâtonnets non sporogènes, capable de croître en aérobies à 37°C et fermentent le lactose avec production de gaz. Les coliformes fécaux regroupent les germes ayant les mêmes propriétés.

La présence d'*Escherichia coli* est un indice de contamination fécale. Ces germes sont des témoins de l'hygiène apportée au cours des étapes de fabrication du produit et nous permet d'apprécier l'importance de contamination dans le produit à examiner.(OMS,1994)(annexe12)

•Staphylocoques

Ce sont des coques à Gram positif, non capsulés, catalase+, aérobies facultatif staphylocoques sont très répandus dans la nature ainsi dans l'air, que dans le sol ou dans l'eau. Ce sont des commensaux : extrêmement fréquent de la peau et des cavités naturelles de l'homme et des animaux. Certaines espèces sont opportunistes (*Staphylocoque epidermidis*, *Staphylocoque saprophyteus*), d'autre peuvent être occasionnellement pathogène (*Staphylocoque aureus*) (Pilet ,1983).

4.4-Analyses microbiologiques du sol (Technique de dénombrement des microflores tellurique)

4.4.1-Préparation des dilutions décimales

A partir d'un échantillon de sol destiné à l'analyse microbiologique, 1 g de sol est pesé puis introduit dans un tube à essai contenant 9 ml de l'eau physiologique. Le contenu du tube représente la solution mère. Dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique

stérilisée, est ajouté 1 ml de la solution mère. Le mélange bien agité représente la dilution à 10⁻¹. 1 ml de cette dilution mélangé à 9 ml d'eau physiologique, correspondra à la dilution 10⁻². On continue ainsi jusqu'à l'obtention de la dilution 10⁻⁸.

4.4.2-Microflore bactérienne:

Le milieu de culture utilisé pour le dénombrement de la microflore bactérienne du sol est un milieu de gélose nutritive (annexe 05). Il présente l'avantage d'être pas trop riche en éléments nutritifs et n'entraîne pas un développement exagéré des colonies (**Oustani, 2006**)

Les bactéries sont cultivées sur milieu solide etensemencées avec des dilutions jusqu'à 10⁻⁸. La lecture des résultats par le dénombrement des colonies apparues se fait après incubation pendant 24 heures par utilisation de compteur des colonies. (**Bedjadj,2011**)

4.4.3-Champignons:

On s'efforce généralement d'éviter le développement concurrentiel des bactéries en acidifiant le milieu ou en y ajoutant de l'acide à pH 4

Les champignons sont cultivés sur le milieu OGA (**annexe4**) etensemencés avec des dilutions décimales du sol à raison de 3 gouttes de chaque dilution (10⁻¹ à 10⁻⁶) soit 0,2 ml sont déposées sur chaque boîte. La lecture des résultats se fait après incubation pendant 7 jours à 28°C (**Bedjadj,2011**)

4.4.4- Les azotobacters

Ensemencer les dilutions du sol sur milieu gélosé favorisant la culture des azotobacters. Numéroter les colonies développées après incubation pendant 7jours à l'étuve à 28°C.(**Dari,2013**)

5.Contrôle microbiologique de tomate

L'analyse de la tomate été réalisée selon la norme microbiologique B-ON°52/4/P727/2004 (**Lachhab,2013**).

Les microorganismes dénombrés ou recherchés étaient essentiellement :

- La flore mésophile aérobies totale(FMAT),
- Les coliformes totaux(CT),
- Les coliformes fécaux(CF),
- Les germes anaérobies sulfito-réducteurs(ASR),
- Staphylococcus aureus,

-Lessalmonelles.

7.1-Préparation des échantillons d'aliments pour analyse microbiologique Solution mère

La préparation de la solution mère consiste à peser aseptiquement dans un sachet stérile 25 g de l'échantillon, le mélanger ensuite avec une quantité neuf fois égale à celle de l'eau peptonée tamponnée (soit 225ml) et enfin souder le sachet en flambant son bord légèrement à la chaleur.

5.2-Dilutions décimales Principe

La préparation de dilutions décimales a lieu si nécessaire, en vue de réduire le nombre de microorganismes par unité de volume pour permettre, après incubation, d'observer leur éventuel développement (cas des tubes) ou effectuer le dénombrement des colonies (cas des boîtes de Pétri).

5.2.1-Protocole

Transvaser, à l'aide d'une pipette stérile 1ml de la SM dans un tube de 9 ml de l'eau physiologique stérile. Mélanger le tout avec un agitateur mécanique (vortex).

Cette opération est répétée sur les dilutions décimales allant de 10^{-2} à 10^{-4} ,

5.2.2Broyage et homogénéisation

L'utilisation d'un homogénéisateur de type péristaltique (Stomacher) est préconisée. Les microorganismes seront délogés de l'échantillon par de forts jets de liquide et par l'écrasement de l'aliment.

habituellement, l'aliment devrait être homogénéisé pour une période d'une minute et demie jusqu'à 2minutes.

5.2.3-Dénombrement et identification des germes

5.2.3.1-Dénombrement des germes totaux(FMAT)

Le dénombrement des germes totaux inclut toutes les cellules végétatives et les spores de bactéries, les levures et les moisissures qui peuvent pousser à une température donnée sur ou dans un milieu de culture donné.

Des micro-organismes strictement mésophiles ont une température optimale de 30-37°C. Leur dénombrement est déterminé sur un milieu Plate Count Agar (PCA), milieu nutritif sans inhibiteurs dans le but de favoriser le développement à 30°C/24h de tous les germes.

Près de la flamme, on transfère 1ml de SM dans les boîtes de Pétri stériles à l'aide d'une pipette stérile, on répète l'opération avec d'autres dilutions. On coule dans chaque boîte de Pétri environ 15ml de PCA préalablement préparé, fondu et refroidi à l'étuve à une T° de

37±1°C, mélanger soigneusement l'inoculum, laisser solidifier puis incuber à 30±1°C pendant 21h±3h.

Après l'incubation, on compte les colonies pour chaque boîte, les résultats sont exprimés en UFC/mL.

5.2.3.2. Dénombrement des coliformes totaux(CT)

On transfère dans une boîte de Pétri stérile 1ml de la SM à l'aide de pipette stérile, puis on coule dans la boîte du milieu VRBL préalablement refroidie. On mélange soigneusement l'inoculum, puis on incube à 37°±1°C pendant 21h±3h.

Après incubation, l'apparition de colonies rouge brique sur un milieu de culture lactosé sélectif indique la présence de coliformes totaux.

5.2.3.3-Dénombrement des coliformes fécaux(CF)

Après transfert dans une boîte de Pétri de 1ml de la SM à l'aide de pipette stérile et y avoir coulé du milieu VRBL préalablement refroidie. On mélange soigneusement l'inoculum et on incube après solidification à 44±0,5°C pendant 21h±3h puisque les coliformes fécaux sont des bactéries thermo tolérantes .Après incubation à 44±0,5°C, l'apparition de colonies rouge brique sur le milieu indique la présence de coliformes fécaux.

5.2.3.4-Dénombrement de Staphylococcus aureus

On transfère à l'aide d'une pipette stérile 0,1 ml de la suspension mère (dilution 10-1) à la surface de boîte de milieu sélectif gélosé (BP). Répéter l'opération avec la dilution 10-2 cuber à 37±1°C durant 24 à 48 h±3h.

Lecture

Après incubation, les colonies caractéristiques sont noires, brillantes et convexes (1 à 1,5 mm de diamètre après 24 h d'incubation et 1,5 à 2,5 mm de diamètre après 48 h d'incubation) et entourées d'une zone claire qui peut être partiellement opaque. Après 24 h d'incubation, peut apparaître dans cette zone claire un anneau opalescent immédiatement au contact des colonies.

Confirmation

La confirmation se fait à travers la recherche de la coagulase. Cependant, on peut passer d'abord par le test DNase, ensuite on réalise le test coagulase aux colonies confirmées DNase positive.

Test DNase Principe

milieu gélosé à l'acide désoxyribonucléique permet la recherche de l'ADN des bactéries, et particulièrement celle des *Staphylococcus aureus*.

La révélation se fait par l'acide chlorhydrique (1 fois normal) qui, une fois appliqué et laissé pénétrer dans le milieu, les microorganismes positifs à la DNase, comme *Staphylococcus aureus*, sont entourés d'une zone claire d'ADN dépolymérisé, tandis que les parties du milieu plus éloignées de la bande d'ensemencement sont opaques et blanchâtres, sous l'effet de l'ADN polymérisé. Les colonies de microorganismes négatifs à la DNase ne présentent pas de zones plus claires en périphérie des colonies. Si la zone autour de la strie est claire, la souche est DNase (+) ; sinon, elle est DNase(-).

Technique

A partir d'une culture purifiée identifiée *Staphylococcus*, on ensemence par épuisement le milieu gélosé à l'acide désoxyribonucléique à l'aide d'une anse à fil droit, on incube à 37°C pendant 24h.

Lecture

Si après addition de l'acide chlorhydrique, la zone autour de la strie est claire, la souche est DNase .positif

Test coagulase Principe

Le plasma de lapin est un milieu idéal pour la recherche de la coagulase libre de *Staphylococcus aureus*. La production de la coagulase permet de différencier les souches de *Staphylococcus aureus* des autres souches (epidermis,...)

Les souches de *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma le plus souvent au cours des 3 premières heures. Dans certains cas, la coagulation est plus légère et plus tardive, mais la réaction ne doit être considérée comme négative que si le phénomène n'intervient pas après la 24ème heure.

Technique

Après une étape d'enrichissement sur milieu BHI de l'inoculum de *Staphylococcus* préalablement identifié et confirmé DNase+, on prélève 0,5 ml de ce dernier, et on l'ajoute à 0,5 ml du plasma de lapin et on incube à 37±1°C pendant 24 h.

Lecture

Si la coagulation se produit dans les 24 h, la souche de *Staphylococcus* est coagulase positive.

5.2.3.5-Dénombrement des germes anaérobies sulfito-réducteurs

A partir de la SM, on transfère aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1 ml dans un tube

contenant 20ml de milieu viande foie ramené à 47°C, puis on mélange doucement l'inoculum au milieu de culture. Après solidification du tube, on incube à 37±1°C/24h±3h.

La couleur noire des colonies et ayant des alentours indiquent les colonies caractéristiques. Ils sont dus à la formation de sulfure de fer.

Le comptage des colonies se fait pour les dilutions contenant moins de 30 colonies. On exprime les résultats en UFC/ml

5.2.3.6-Recherche des Salmonelles

La méthodologie employée au LRDEHM permettant d'isoler et identifier la bactérie Salmonella dans les aliments. Elle comprend 4 étapes : le pré enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et l'identification (biochimique et par galerie API 20E.)

Pré-enrichissement en milieu non-sélectif

Il consiste à prélever de façon aseptique, différentes parties de la salade, à l'ensemencer dans l'eau peptonée, puis l'incuber à 37±1°C pendant 24h±3h

Enrichissement en milieu sélectif

Les cultures de pré-enrichissement sont ensemencées dans un milieu nutritif contenant des agents inhibiteurs actifs sur les germes qui font concurrence à Salmonella. Pour cela, on transfère à l'aide d'une pipette stérile 0,1 ml de la culture de pré-enrichissement dans 10 ml de bouillon rapport et on incube à 44±0,5°C pendant 21h±3h.

Culture sur gélose sélective

Les cultures d'enrichissement sélectif sont étalées par stries sur des géloses sélectives qui inhibe la croissance des bactéries concurrentes et permettent un examen visuel des colonies présumées Salmonella.

CHAPITRE III

RESULTATS

ET

DISCUSSIONS

3. Résultats et discussions

3.1-Contrôle microbiologique des eaux usées

Le suivi de la qualité microbiologique des eaux consiste à la recherche des salmonelles, vibrion et au dénombrement des germes suivants : les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques fécaux ainsi que les clostridium sulfite-réducteurs (tableau 02).

Echantillon	coliforme totaux		coliforme fécaux		clostridium		streptocoque fécaux		selmonelle		Vibrien		oeuf d'helminthe	
	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N
E1	290	-	26	10 ^{3*} 10 ³⁻	8	-	6	-	ABS	ABS*	ABS	ABS*	ABS	ABS*
E2	400	-	40	10 ^{3*} 10 ³	6	-	5	-	ABS	ABS*	ABS	ABS*	ABS	ABS*
E3	350	-	60	10 ^{3*} 10 ³	10	-	5	-	ABS	ABS*	ABS	ABS*	ABS	ABS*
E4	270	-	23	10 ^{3*} 10 ³	12	-	4	-	ABS	ABS*	ABS	ABS*	ABS	ABS*

R : Résultats, N : normes,* normes algérienne, - normes OMS , ABS : Absence

Tableau 02 : résultats d'analyse bactériologique des eaux usées de la station d'épuration d'AIN DEFLA

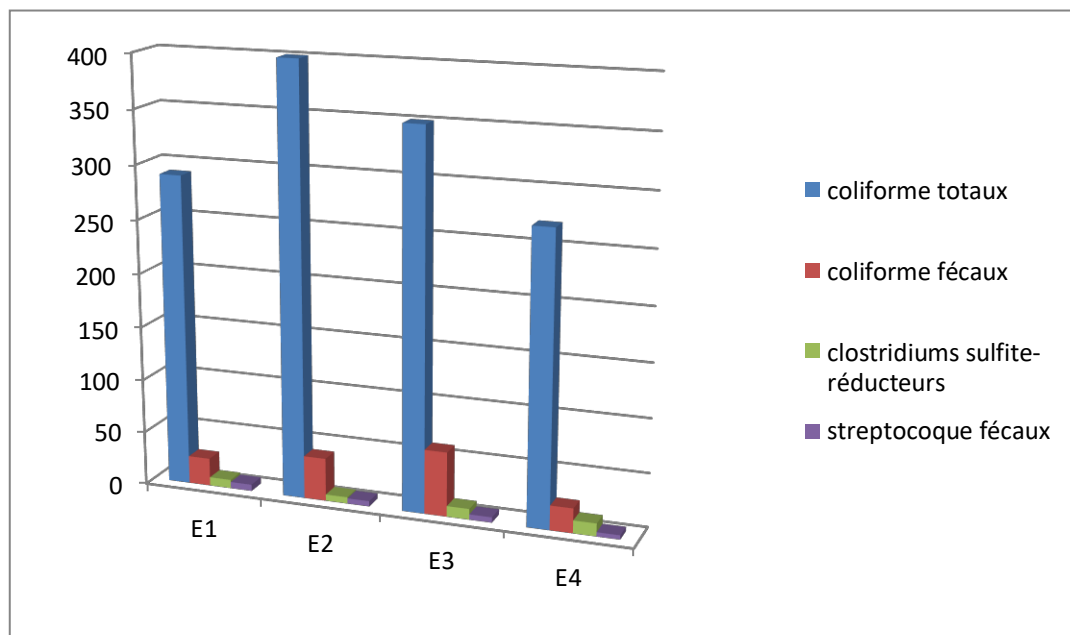


Figure 06: densité des germes pathogènes dans les quatre échantillons des eaux usées.

Les résultats des analyses microbiologiques confirment la présence des divers germes tels que les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques fécaux et clostridiiums sulfito réductase et l'absence des salmonelles, vibrion.

L'échantillon E2 contient le nombre le plus élevé des coliformes totaux et l'échantillon E3 le nombre plus élevé des coliformes fécaux.

En comparant avec les normes de l'OMS et algérienne, on a remarqué que le taux des coliformes fécaux dans les quatre échantillons est inférieur au seuil autorisé.

La réglementation de l'OMS se base plus particulièrement sur la qualité microbiologique de l'eau en raison de risque qu'elle provoque (OMS, 1989). Ces recommandations sont adaptées au pays en voie de développement, elles représentent la limite au-delà de laquelle la santé publique n'est plus assuré (Ahour et Ounoki, 2014).

Dans le cadre de l'évaluation des qualités physicochimiques et bactériologiques des eaux usées brutes et épurées de la ville d'Ourgla et la possibilité de leur valorisation en irrigation, Achouret Ounoki, (2014) ont montré la présence de divers germes tels que les germes totaux, les coliformes totaux, les streptocoques fécaux et les clostridium sulfito réducteur en nombre appréciable.

Les résultats trouvés au cours de notre étude sont similaires de ceux rapportés par Boufercha et Benmalek, (2017) et Bensalem, (2008) qui montre que les eaux usées épurées de la STEP d'Ibn Ziads et Sidi Belabbas répond à la norme de OMS.

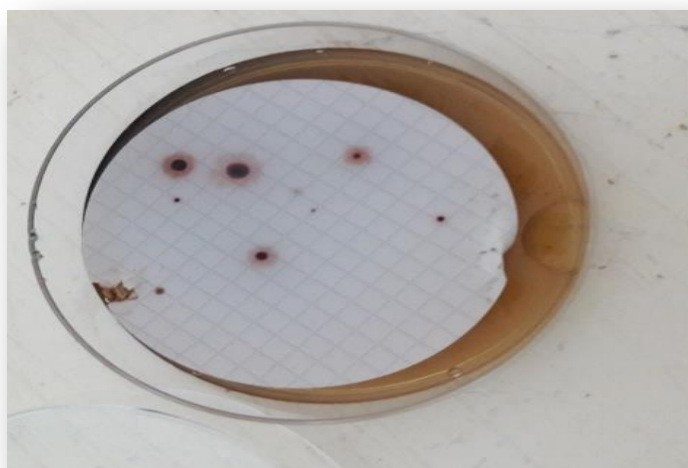


Figure07 : aspect des streptocoques fécaux sur milieu Slanetz et Bartley



Figure 08 : aspect des clostridium sulfite réducteurs sur milieu viande foie

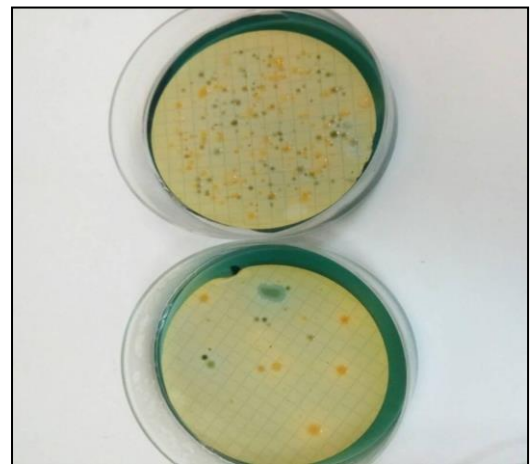


Figure 09 : aspect des coliformes totaux et fécaux sur milieu tergitol.

3.2-Contrôle microbiologique de la boue

En utilisant la méthode de NPP pour la recherche des coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux nous avons obtenu les résultats

échantillon	coliforme totaux		coliforme fécaux		clostridium		streptocoque fécaux		selmonelle		vibron		oeuf d'helminthe		staphylococcus aureus	
	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N	R	N
E1	160	-	26	2*10 ⁶ _T	IND	-	92	-	AB S	<8- 10g MS ^F	AB S	AB S	PRE	<3-10g MS	PRE	-
E2	160	-	40	2*10 ⁶ _T	IND	-	160	-	AB S	<8- 10g MS	AB S	AB S	PRE	<3-10g MS	PRE	-
E3	+24 0	-	60	2*10 ⁶ _T	IND	-	160	-	AB S	<8- 10g MS	AB S	AB S	PRE	<3-10g MS	PRE	-
E4	160	-	23	2*10 ⁶ _T	IND	-	160	-	AB S	<8- 10g MS	AB S	AB S	PRE	<3-10g MS	PRE	-

Tableau 3 : résultats d'analyse bactériologique des boues de la station d'épuration d'AinDefla

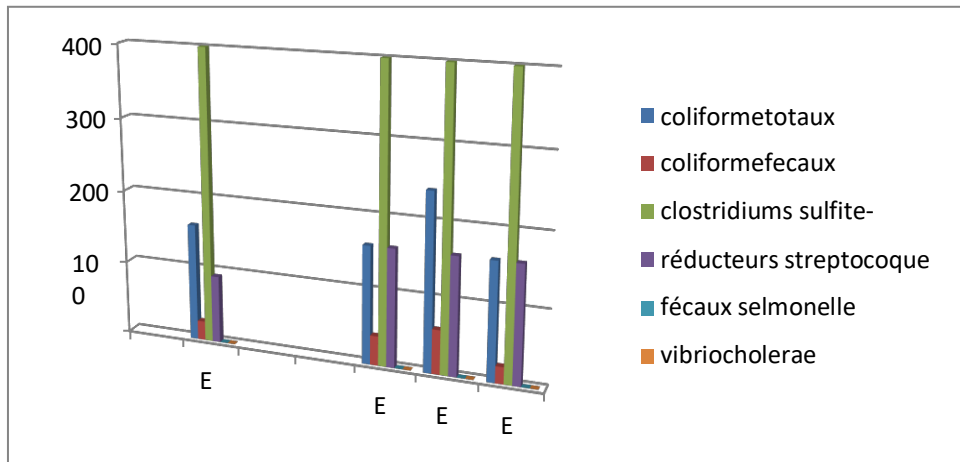


Figure 10 : densité des germes pathogène dans les 4 échantillons de la boue.

Selon la figure, les boues étudiées contiennent une quantité importante de germes pathogènes tel que les coliforme totaux, coliforme fécaux, clostridium, streptocoque fécaux, *Staphylococcus aureus* et les œufs d’helminthes.

On constate que l’échantillon E3 est l’échantillon le plus chargé en microorganismes pathogènes.

Les résultats montrent aussi que les boues résiduaires utilisées dans les essais d’épandage étaient conformes à la norme française NF U 44-095(J.O.26mars 2004) (Ramdani,2007) et la norme tunisienne NT 106-20(2002)(Khelil et al.2016).

Selon Glenas (1980) et Duchene (1990), les conditions de vie bien particulières (température, humidité, richesse du milieu) nécessaire au bon développement des germes pathogènes ne se rencontrent pas lors du traitement biologique des eaux usées, ni lors du traitement des boues ni de l’épandage ce qui signifie que la plupart des germes sont détruits totalement.

D’autres auteurs tels que Bachac et al (1984) confirment que la survie de certains germes pathogènes après le traitement que subissent les boues et même après épandage.

En cas d’incorporation au sol, ces boues ne présenteraient pas de grands risques de contamination car les germes subsistants se trouvent dans un milieu où les

conditions de vie bien particulières telles que la température et l'humidité, leurs sont défavorable. Par conséquent, leur survie dans la nature se trouve limitée.



Figure 11: œuf d'helminthe sous microscope optique.



Figure 12 : Aspect des clostridium sulfitoréducteurs sur milieu viande foie.



Figure13 :Aspect de *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman.

3.3-Contrôle microbiologique de la tomate

Nous avons réalisé dans notre travail un contrôle microbiologique de la tomate afin de savoir si ces dernières sont contaminées par les germes pathogènes proviennent de la boue épandue. Les résultats sont présentés par le tableau 04

Echantillon	coliforme totaux	coliforme fécaux	Clostridium	germe aérobie mésophile	Salmonella	Vibron	œuf d'helminthe
Témoin	absence	Absence	absence	absence	Absence	Absence	Absence
Tomate 1	absence	Absence	absence	absence	Absence	Absence	Absence
Tomate 2	absence	Absence	absence	absence	Absence	Absence	Absence

Tableau 4 : résultats de contrôle microbiologique de la tomate

L'évaluation de la qualité hygiénique des tomates a révélé l'absence des germes pathogènes : la flore des aérobies mésophilest otaux, les coliformes totaux les coliformes fécaux, les staphylocoques, les salmonelles et les clostridium sulfito réducteurs.

Le niveau de la contamination bactérienne des tomates récolté du sol épandue par la boue est nulle, ceci a été prouvé par les travaux de Breer,(1975) et Argent , (1978)qui ont trouvé que la survivance des microorganismes pathogènes après épandage est variable suivant les espèces.

À titre d'exemple, les salmonelles et les coliformes fécaux peuvent survivre de 20 à 70jours, les vibrions de 10à 20jourset les œufs d'helminthes entre 30 et6 0 jours.

Les travaux de Khelil et al, (2016) consiste à évaluer la qualité microbiologique des produits agricoles cultivés sur des sols ayant reçu différentes doses de boues résiduaires urbaines. Les essais ont été menés sur

trois cultures maraîchères qui sont le radis, la laitue et le concombre. Quatre doses de boues variant de 5 à 100 tonnes/ha ont été testées. Les résultats montrent que la contamination par les indicateurs fécaux varie considérablement pour un même traitement. Dans le cas des trois cultures, la dose des boues appliquée au sol n'influence pas significativement le niveau de contamination bactérienne des produits. Pour la laitue, les feuilles périphériques, souvent en contact avec le sol, sont significativement plus contaminées par les coliformes et les streptocoques fécaux que les feuilles internes.

Des recherches qui ont été faites sur la valorisation des boues dans l'agriculture par Rejeben 2011. Selon les premiers résultats obtenus, les produits agricoles produits sur le périmètre de BorjTouil présentent une qualité bactériologique satisfaisante.

3.4-Résultats des analyses du sol :

3.4.1-Résultats des analyses physico-chimiques :

Le tableau suivant résume les résultats du pH, humidité et conductivité électrique des échantillons du sol.

	sol irrigué par eau traitée	sol épandu par la boue
Ph	9,00	8,5
Humidité	7,30	4,7
conductivité électrique	0,10	0,12

Tableau 2 : résultats des analyses physico-chimique

Le pH est supérieur à 8. Il est de l'ordre de 9,00 et 8,50 pour le sol irrigué par l'eau traitée et le sol épandu par la boue, respectivement. D'après les classes de pH de l'extrait 1/5 nos sols sont alcalins (Dari,2011)

Par ailleurs, la conductivité électrique du sol irrigué par l'eau traitée est de l'ordre de 0,10 (ds/m), et celui épandu par la boue est de l'ordre 0.12 (ds/m). Cela nous a conduits de classer nos sols parmi les sols non salés.

3.4.2-Résultats des analyses microbiologiques :

Pour savoir l'effet de l'irrigation par les eaux usées et l'épandage par la boue sur la microflore du sol, nous avons réalisé le dénombrement des microorganismes avant et après épandage et irrigation. Les tableaux 3 et 4 résument les résultats trouvés.

	bactéries	champignon	Azotobacter
SE S1	15,59 x 10 ⁵ UFC/g s. s	23,20x10 ² g/g. s. s	15,45x10 ⁴ UFC/g s. s
SE S2	54,54x10 ⁴ UFC/g s. s	08,90x10 ² g/g. s. s	80,45x10 ³ UFC/g s. s
TEMOIN			
SE I 1	10,10x10 ⁵ UFC/g s. s	15 ,20x10 ² g/g. s. s	98,75x10 ³ UFC/g s. s
SE I2TEMOIN	20,10x10 ⁴ UFC/g s. s	8,78x10 ² g/g. s. s	60,45x10 ³ UFC/g s. s
SE III	15,50x10 ⁴	20,3x10 ²	90,78x10 ³

Tableau 6 : Dénombrement des microorganismes dans sol irrigué par les eaux usées

g/g. s. s: germes par gramme du sol sec

	bactéries	champignon	azotobacter
SE S1	15,59 x 10 ⁵ UFC/g s. s	23,20x10 ² g/g. s. s	15,45x10 ⁴ UFC/g s. s
SE S2	54,54x10 ⁴ UFC/g s. s	08,90x10 ² g/g. s. s	80,45x10 ³ UFC/g s. s
TEMOIN			
SE I 1	10,10x10 ⁵ UFC/g s. s	15 ,20x10 ² g/g. s. s	98,75x10 ³ UFC/g s. s
SE I2TEMOIN	20,10x10 ⁴ UFC/g s. s	8,78x10 ² g/g. s. s	60,45x10 ³ UFC/g s. s
SE III	15,50x10 ⁴ UFC/g s. s	20,3x10 ² g/g. s. s	90,78x10 ³ UFC/g s. s
SE II2	10,40x10 ⁴ UFC/g s. s	15 ,78x10 ² g/g. s. s	70,78x10 ³ UFC/g s. s
TEMOIN			

Tableau 4: Dénombrement des microorganismes dans le sol épandu par la boue

3.4.2.1-Bactéries :

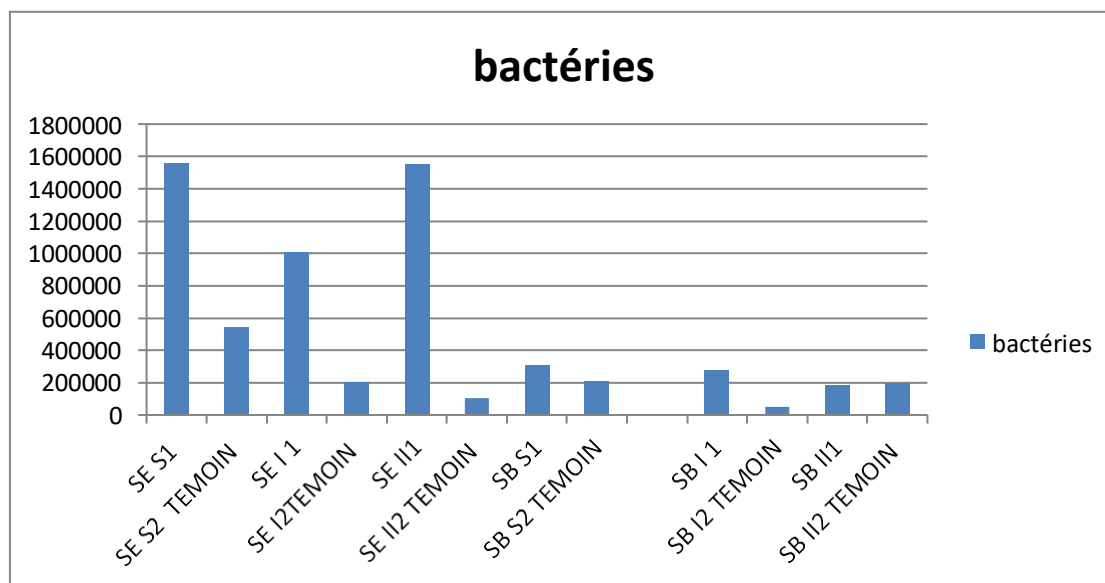


Figure 14 : la densité de la microflore bactérienne dans les deux sols.

À partir des résultats représentés dans le tableau il ressort qu'au point de vue densité par rapport aux deux type de sol, le nombre de microorganismes est élevé en sol irrigué par les eaux traitées par rapport au sol épandu par la boue.

D'après les résultats nous remarquons que la densité des bactéries est plus élevée dans le sol irrigué par les eaux usées avec un seuil de $15,59 \times 10^5$ UFC/g s. s

On remarque que les bactéries sont les microorganismes les plus dominants dans les deux sols, cette dominance pourrait être attribuée à l'ubiquité des bactéries qui sont capables de coloniser des milieux différents et elles peuvent être activées pour de grands domaines de température, d'acidité, d'alcalinité, de pression et de salinité (Dommergues et Mangente ,1970).

Quant à l'effet de l'acidité, plus le sol est acide, moins la biomasse microbienne est importante. Les bactéries sont plus favorisées par des milieux proches de la neutralité (Boullard et Morceau,1962)

Le taux des bactéries est toujours plus élevé dans le sol irrigué par rapport au sol témoin. Cela est dû certainement au taux élevé de l'humidité du sol irrigué et probablement de la richesse des eaux usées en minéraux et matière organique.

L'humidité règle l'activité biologique de plusieurs manières :

- Elle intervient directement puisque l'eau est indispensable au développement des organismes vivants ;
- Elle intervient indirectement :
 - en modifiant les échanges gazeux,
 - en transportant verticalement ou latéralement diverses substances, dont les substrats énergétiques ou certains éléments de la microflore

Nos résultats confirment ceux trouvés par de Bazzine (2003) et Karibi(2010) qui arrivent à montrer que la densité des microorganismes est prédominée par la microflore bactérienne

Les microorganismes du sol sont largement hétérotrophes ce qui veut dire qu'il dépend d'une source de matières organiques pour entirer leur énergie et se multiplier, on parle aussi des microorganismes décomposeurs.

Les travaux de Foster et al. (1983) ont permis de constater que les microorganismes ne sont pas distribués de façon homogène dans le sol, mais se retrouvent plutôt sous forme de micro colonies, pour la plupart dans un état de dormance.

Dès qu'une source d'énergie se trouve près de ces micro colonies, l'état de dormance des cellules microbiennes est levé, si des éléments nutritifs sont présents les microorganismes se multiplieront rapidement .L'arrivé d'une source d'énergie survient lorsqu'on amende le sol.

Les agrégats formés par l'activité microbienne de décomposition des matières organiques ont toutefois une durée de vie limitée et se désagrègeront à mesure que les microorganismes se décompose et s'humifie et que les microorganismes mourant ou entreront de nouveau en dormance après avoir épuisé leur source d'énergie.(Dayegamiya,2007)

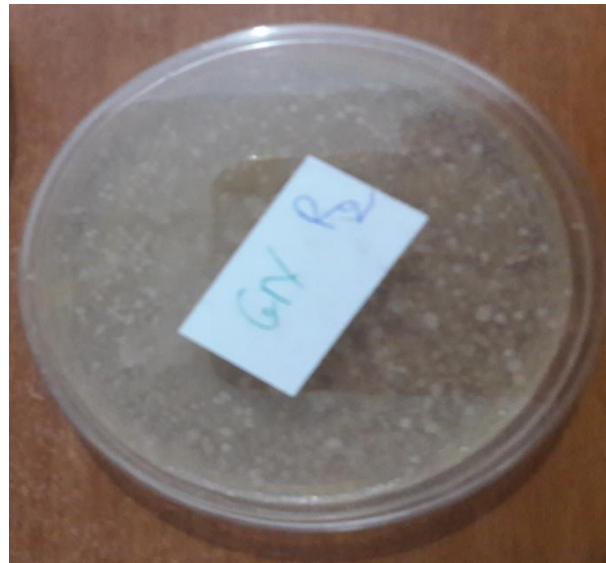


Figure 15 : Aspects macroscopique des colonies des bactéries

3.4.2.2-Champignon :

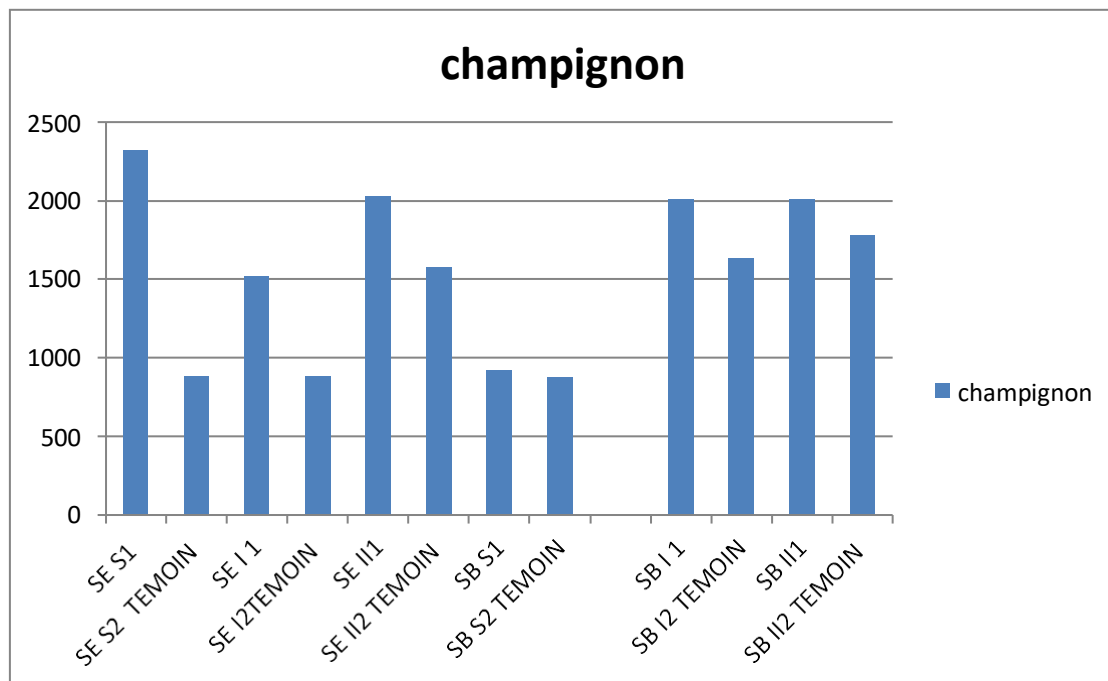


Figure 13 : la densité des champignons dans les deux sols.

Pour la microflore fongique, on constate que la densité des champignons dans les sols irrigués par l'eau traitée est plus importante par rapport à celui épandu par la boue. La densité varie entre 23,20x10²g/g. s. s dans l'échantillon SE S1 et 8,78x10²g/g. s. s dans l'échantillon SE I2temoin

On constate également que la densité des champignons est moins importante que les bactéries dans les deux sols. Cette diminution peut être expliquée par la particularité que possède les champignons vis-à-vis de l'acidité, en effet les champignons préfèrent des milieux acides ou ils ne rencontrent pas la concurrence des bactéries (Morel, 1982), le pH alcalin de nos deux sols explique la faible densité des champignons par rapport aux bactéries.

On remarque que la densité des champignons dans le sol irrigué par les eaux traitées est supérieure à celui épandu par la boue. En effet, la répartition et le nombre des champignons dans le sol sont affectés par nombreux facteurs du milieu, tels que :

- La teneur du sol en matière organique au dépend de laquelle vivent ces microorganismes hétérotrophes,
- L'humidité peut également diminuer le nombre des champignons dans le sol en réduisant leur activité

3.4.2.3-Azotobacter

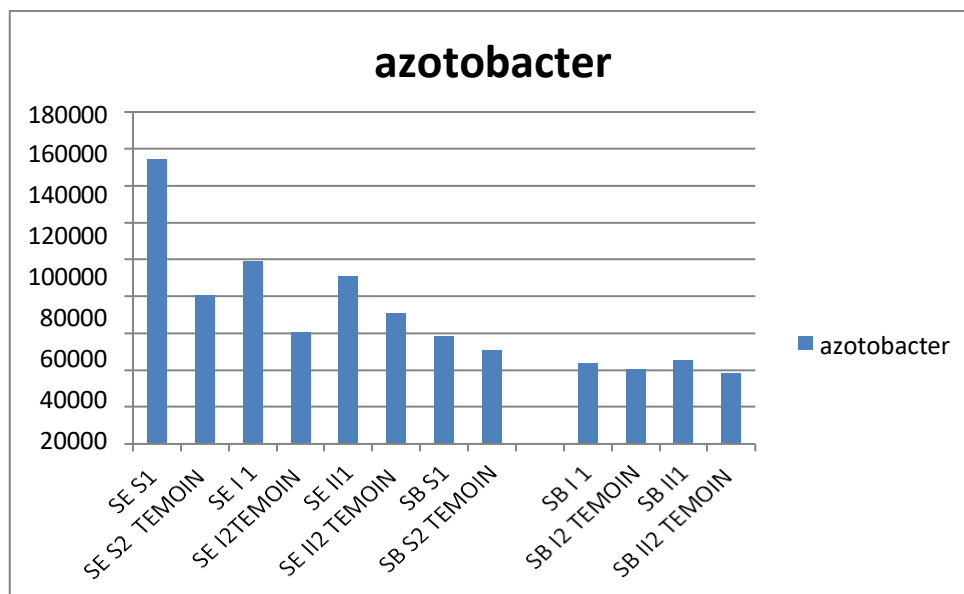


Figure 14 : la densité des azotobacters dans les deux sols.

Le dénombrement des azotobactères a montré que ces derniers sont relativement faibles, Nous avons enregistré des valeurs qui varient entre $38,35 \times 10^3$ dans l'échantillon SB II2 témoin et $15,45 \times 10^4$ dans l'échantillon SE S1.

On remarque aussi que le taux augmente toujours dans les échantillons irrigués par l'eau traitée par rapport à l'échantillon témoin par contre le taux ne varie pas vraiment dans les échantillons épandus par la boue, cette variation est peut-être due à la richesse en minéraux et matière organique dans les échantillons irrigués par les eaux usées par rapport aux échantillons épandus par la boue qui ont épuisé leur matière organique à cause de la culture de la tomate .



Figure 16 : aspect de colonie d'azotobacter

Les travaux de Yaakoubi et al , qui ont été fait sur la margines dans le but d'évaluer les effet des différentes dose de margines sur la microflore du sol Les résultats obtenus montrent que l'épandage des margines a engendré une augmentation de la flore mésophile aérobie totale du sol en comparaison avec le témoin.

Cette évolution croissante de la FMAT pourrait être expliquée par l'enrichissement du milieu en azote minéral par les aérobies d'azote qui s'activent également suite à l'épandage des margines et par le C soluble apporté.

**CONCLUSION
GENERALE**

Dans ce travail, nous avons étudié la qualité bactériologique des eaux usées et la boue de la station d'épuration de Ain Defla afin d'étudier l'aptitude de les utiliser dans l'agriculture et d'évaluer la qualité microbiologique des produits agricoles cultivés sur le sol épandu par la boue

Les analyses et les mesures microbiologiques des eaux épurées ont montré que les valeurs de ces paramètres sont conformes aux normes requises et sont donc de bonne qualité pour leur réutilisation en irrigation, ceci dit elles ne présentent aucun danger quant à leur réutilisation

Les tests d'identification des bactéries isolées à partir de la boue ont permis d'identifier les espèces suivantes : coliforme totaux, coliforme fécaux, clostridiens, streptocoque fécaux, *Staphylococcus aureus* et les œufs d'helminthes

Le dénombrement bactérien réalisé sur les échantillons de tomate montre que les boues résiduelles n'ont pas un effet sur le produit agricole.

Les résultats du dénombrement des différents groupes microbiens du sol montrent une variation de la biomasse microbienne entre les échantillons étudiés et les échantillons témoins, les résultats révèlent que les bactéries sont les plus nombreuses, nous avons enregistré une valeur maximum de $15,59 \times 10^5$ UFC/g s. s dans l'échantillon SES1. Le taux de la microflore le plus élevé a été trouvé dans le sol irrigué par les eaux usées traitées.

beaucoup de facteurs peuvent influencer l'activité biologique du sol tels que : le type de sol, le type de la matière organique, l'humidité et la température du sol, etc..

Perspectives :

Cependant pour confirmer nos résultats, il serait nécessaire de :

- Faire des analyses chimiques telles que le dosage de l'azote et de carbone pour comprendre mieux la variation de l'activité biologique du sol irrigué par les eaux usées traitées ou épandues par la boue ;
- Étaler l'étude sur une période plus longue avec plusieurs prélèvements ;
- Caractériser à l'échelle moléculaire la microflore du sol par PCR, PCR en temps réel, Séquençage de l'ADN.

REFFERENCES

BIBIOLGRAPHIQUES

REFERANCES BIOBLOGRAPHIQUE

REFERANCE BIOBLOGRAPHIQUE

- ABDELMOUMEN LEALA.(2011).**Contribution à la valorisation des boues de station d'épuration par l'appréciation d'une nouvelle méthodologie de l'essai au bleu de méthylène. memoire.université d'oran .pp :25
- ACHOUR S ET OUNOKI S.(2014).**Evaluation de la qualité physico-chimique et bacteriologique des eaux usées brute et epurée de la vile d'ourgla .possibilité de leur valorisation en irrigation ..université de ourgla .pp:255
- ADAME.(1997).**Epandage des boues d'épuration urbaine ,aspects sanitaires et environnementaux édition ADEME. Actes définitifs des journées technique ,5 et 6 juin 1997,paris pp 321 in PISSON CYRIL.(2000).Impact de l'épandage agricole des boues résiduaires urbaines sur la qualité des productions céréalières en particulier sur l'aspect des éléments tracs métalliques.ensp.pp:04-06
- AMIR SOUMIA . (2005).** Contribution a la valorisation de boues de stations d'épuration par compostage : devenir des micropolluants métalliques et organiques et bilan humique du compost. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse.in ABDELMOUMEN LEALA.(2011).Contribution à la valorisation des boues de station d'épuration par l'appréciation d'une nouvelle méthodologie de l'essai au bleu de méthylène.memoire.université d'oran .pp :25
- ANNABI. M, 2005.** Stabilisation de la structure d'un sol limoneux par des apports de composts d'origine urbaine: relation avec les caractéristiques de leur matière organique. Thèse Doct. INRA, paris, pp:270.
- ATI SABRINA.(2010).** Etude de l'effet des boues résiduaire sur sol culture dynamique du phosphore et son utilisation en zone semi aride. thèse de magistère. universitéelhaidjlekhederbatna .pp:03-04
- ATTAB SARAH.(2011).** Amélioration de la qualité microbiologique des eaux épurées par boues activées de la station d'épuration haoubarkaoui par l'utilisation d'un filtre à sable local .mémoire de magister .pp:11
- AZZABI AIDA. (2012).** Influence des boues résiduaires sur le comportement d'une culture sous jacente touggourt .memoire. université de ourgla ,pp:12
- BACHAC J.P et al.(1984).**Traitement des eaux usées paris, France edition Eyrolles,281p in RAMDANI NADIA. (2007).Contribution à l'étude des boues urbaine de la station d'épuration des eaux usées résiduaire effet sur la fertilité d'un sol sableux .mémoire demagister .université d'oran.pp :34-35

REFERANCES BIOBLOGRAPHIQUE

- **BENAHACENE AMIRA ET BENZINA HASSINA.(2018).** Contribution à l'évaluation de la performance épuratoire de la station d'épuration des eaux usées de la station d'Ain Defla.memoire master.universite khemis meliana.pp :12-13
- **BAISE,2000.**Guide des analyses en pédagogie .chois expression présentation interprétation .2eme ed.INRA.Paris.p257 in RAMDANI NADIA ,(2007).contribution à l'étude des boues urbaines de la station d'épuration des eaux usées résiduelles effet sur la fertilité d'un sol sableux.memoir magister .université oran .pp33
- **BEDJADJ SOUAD. (2011).**Contribution à l'étude des caractéristiques microbiologiques des sols dans la région de Ouargla(cas de l'exploitation de l'université de Ouargla).memoir.pp : 5-6.
- **BEN ALI ABDELBAR.(2014).**contribution à l'étude de l'effet du travail sur la biomasse microbienne d'un sol oïsis. Memoir .université de ouargla.pp:4
- **BEN ABDELMOUMEN LEALA.(2011).** Contribution à la valorisation des boues de station d'épuration par l'appréciation d'une nouvelle méthodologie de l'essai au bleu méthylène.memoire .universited'oran. PP :05-06
- **BOULLARD. B, MOREAU. J, (1962).** Sol, microflore et végétation. Edition ; Masson; paris,289p.
- **CÉBRON. A. (2004).** Nitrification, bactéries nitrifiantes et émissions de N₂O. La seine en aval de paris. Thèse doctorat,289p
- **CLEMENT et FRANCOISE.(2009).** Analyse chimique des sols édition TEC&DOC Lavoisier, 2003 2e tirage 2009.in DARI RAZIKA.(2013). Dénombrement de la biomasse microbienne des sols arides exemple d'un sol salé sous deux types de cultures. memoire.université d'Ouargla .pp :23-24
- **DARI RAZIKA.(2013).** Dénombrement de la biomasse microbienne des sols arides exemple d'un sol salé sous deux types de cultures. memoire.université d'Ouargla .pp:23-24
- **DAYEGAMIYA ADRIEN.(2007).**La contribution en azote du sol reliée à la minéralisation de la matière : facteur climatique et régions agricoles influençant les taux de minéralisation d'azote .pp34
- **DEGREMONT. (2005)-**Mémento technique de l'eau. Tome 1, 2ème édition Cinquantième, Paris, pp 109-599 in ATTAB SARAH. (2011). Amélioration de la qualité microbiologique des eaux épurées par boues activées de la station d'épuration haoudbarkaoui par l'utilisation d'un filtre à sable local .mémoire de magister .pp:11
- **DOMMARGUES Y.(1965).** Etude de quelques facteurs influant sur le comportement de la microflore du sol au cours de la dessiccation. Bio.sol.ORSTOM. collection de référence, juin

REFERANCES BIOBLOGRAPHIQUE

1965, N° 92

•**DIARRA ADALPHE RABIATOU.(1999).**Cycle géochimique du carbone azote et phosphore dans l'écosystème imonde .memoire.université mali .pp:65-70

DUCHENE P.(1990).Le système de traitement des boue des station d'épuration des petites collectivité .documentation technique du FNDAE n°08.p 08-09 in RAMDANI NADIA. (2007).Contribution à l'étude des boues urbaine de la station d'épuration des eaux usées résiduaire effet sur la fertilité d'un sol sableux .mémoire de magister.université d'oran.pp :34-35

•**DUMONTET ,s.,SCOPA , A., KERJE,S. KROVACEK K.(2001).** The importance of pathogenic organisms in sewage and sewage sludge. Journal of the Air &Waste Management Association 51, 848-860.

•**EL MAHDI DADI .(2010).**L'évaluation de la possibilité de réutiliser en agriculture l'effluent traité de la commune de Drarga.centre univrsitaire de formation en envirennement université de storbooke.pp:6-7-8

•**EFFEBI K R. (2009)**-Lagunage anaérobie : modélisation combinant la décantation primaire et la dégradation anaérobie. Thèse Doctorat. Université de Liège Campus d'ARLON, pp 7-9. In ATTAB SARAH.(2011). Amélioration de la qualité microbiologique des eaux épurées par boues activées de la station d'épuration haoudbarkaoui par l'utilisation d'un filtre à sable local .mémoire de magister .pp:34

- **FARTAS KALTOUM LAOUISSI HANA ZOUAIMIA SELMA.(2015).** Etude Microbiologique Des Boues Des Eaux Usées De La Ville De Guelma.Memoir de master..UNIVERSITE 8 Mai 1945 de GUELMA.pp :04

•**GAMRASNI M.A. (1981)** .Utilisation agricole des boues d'origine urbaines A.F.E.E. bull 4.(64). 25-64 in ATI SABRINA.(2010). Etude de l'effet des boues résiduaire sur sol culture dynamique du phosphore et son utilisation en zone semi aride. thèse de magistère. Université elhaidj lekheder batna .pp :03-04

•**GLEMAS P.(1980).**Fertilisation boue compost de finition fabrication et caracerisation revu n°132 :44-51 in RAMDANI NADIA. (2007).Contribution à l'étude des boues urbaine de la station d'épuration des eaux usées résiduaire effet sur la fertilité d'un sol sableux .mémoire de magister .université d'oran.pp:34-35

•**GOBAT J ,ARAGNO M ,MATTHEY W. (2003).** Le sol vivant, second edn. Lausanne: Presses polytechniques et universitairesromandes.

•**HARTANI TARIK.(2004).** La réutilisation des eaux usées en irrigation : cas de la Mitidja en Algérie. Projet INCO-WADEMED.Actes du séminaire Modernisation de l'Agriculture pp:12

REFERANCES BIOBLOGRAPHIQUE

- ITAB, 2002.** Activités biologique et fertilité du sol,23p.
- JOHNSES , G., WASTESON ,Y.,HEIR, E., O.I ET HERISKSTAD , H.(2001).** Escherichia coli O157: H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. International journal of foodmicrobiology PP : 65,193-200.
- KHELIL MOHAMED NACEUR ,MARZOUGUI NIDHAL.,TRAD RAIS OUNA.,(2016).SONIA SABBAHI.(2016).**Impact de l'épandage agricole des boues résiduaires urbaine sur la qualité microbiologique de trois légumes.pp:29-30-31
- KHOURI ,N.KALBERMATTEN ,J.M. and BARTONE ,C.R.(1994).** The reuse of wastewater in agriculture : A guide for planners. In Khouri, N. Kalbermatten, J.M. and Bartone, C.R. Water and sanitation.LAZAROVA V ET BRISSAUDF
- Lachhab.(2013).**evaluation de la qualité hygeinique des salade prête à consommer dans la ville de Fès . mémoire.université sidi mohamed beneabdellah.pp:30
- LAZAROVA V ET BRISSAUD F. (2007).** Intérêt, bénéfices et contraintes de la réutilisation des eaux usées en France. L'eau, L'industrie, Les nuisances, n299, p. 43-52. In EL MAHDI DADI .(2010).L'évaluation de la possibilité de réutiliser en agriculture l'effluent traité de la commune de Drarga.centreunivrsitaire de formation en envirennement université de storbooke.pp:8-12
- MABROUK AYOUB .(2009).**Application de la nitrification –denitrification dans les traitement des eaux usées.memoire.universitéchaouaib eljadida.pp:26
- Marsalek, J., Schaefer, K. Exall, K. Brannen L. et Aidun, B. (2002).** Réutilisation et recyclage de l'eau. In Marsalek, J., Schaefer, K. Exall, K. Brannen L. et Aidun, B. Compte rendu de l'atelier sur les sciences de l'eau et les politiques, Calgary, les 30 et 31 mai 2002. Winnipeg, Série d'ateliers du Conseil canadien des ministres de l'environnement sur les sciences de l'eau et les politiques. In EL MAHDI DADI .(2010).L'évaluation de la possibilité de réutiliser en agriculture l'effluent traité de la commune de Drarga.centreunivrsitaire de formation en envirennement université de storbooke.pp:8-12
- MOUSSA MOUMOUNI DJERMAKOYE H. (2005).** Les eaux résiduaires des tanneries et des teintureries. Caractérisation physico-chimiques, bactériologiques et impact sur les eaux de surfaces et les souterraines. Thèse Doctorat. Université de Bamako, pp 29. In ATTAB SARAH. (2011). Amélioration de la qualité microbiologique des eaux épurées par boues activéesdelastationd'épurationhaoudbarkaouiparl'utilisationd'unfiltreà sablelocal .mémoire de magister .pp 11
- MOREL, 1989.** Les sols cultivés. Tech et Doc .Lavoisier, paris,272p.
- OMS. (1989)**-L'utilisation des eaux usées en agriculture et aquiculture : recommandation avisées sanitaires. Organisation Mondiale de la Santé, Genève, pp-

REFERANCES BIOBLOGRAPHIQUE

60. In ATTAB SARAH. (2011). Amélioration de la qualité microbiologique des eaux épurées par boues activées de la station d'épuration haoubarkaoui par l'utilisation d'un filtre à sable local .mémoire de magister .pp:25
- OMS.(1994).**Directives de la qualité de l'eau de boisson.2eme edition .vol 1 : recommandation OMS ,Geneve.pp :8-30
 - OUALI M. S. (2001)**-Cours de procédés unitaires biologiques et traitement des eaux. Office des Publications Universitaires, Alger, pp12-31. in ATTAB SARAH.(2011). Amélioration de la qualité microbiologique des eaux épurées par boues activées de la station d'épuration haoubarkaoui par l'utilisation d'un filtre à sable local .mémoire de magister .pp :11
 - OULARBI RADHIA . MAHARZI OUM ELKAIR .(2017).** Traitement des eaux usées urbaines de la ville de Ain defla par électrocoagulation.memoir. Université Djilali Bounaama.pp:07
 - OUSTANI M.(2006).**Contribution à l'étude de l'influence des amendements organique (fumier de volaille et fumier de bovins) sur l'amélioration des propriétés microbiologique des sols sableux non salé et salé dans les regions saharienne .memoire magister .université de Ourgla .pp :187
 - PISSON CYRIL.(2000).**Impact de l'épandage agricole des boues résiduaires urbaines sur la qualité des productions céréalières en particulier sur l'aspect des éléments traces métalliques.pp:15
 - RAMDANI NADIA. (2007).**Contribution à l'étude des boues urbaine de la station d'épuration des eaux usées résiduaires effet sur la fertilité d'un sol sableux .mémoire de magister .université d'oran.pp:34-35
 - REMY ALBRECHT CO.(2007).** Compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts : nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique. Thèse de doctorat. Université Paul CEZANNE AIX-MARSEILLE III. ABDELMOUMEN LEALA.(2011).Contribution à la valorisation des boues de station d'épuration par l'appréciation d'une nouvelle méthodologie de l'essai au bleu de méthylène.memoire.université d'oran .pp :27
 - REJEB SALOUA ,(2011).**Valorisation agricole des eaux usées traitées et des boues résiduaires en agriculture. Région de tunis et nabeul .pp :14
 - ROBERT M., CHENU C. ,(1992)**- Interactions between soil minerals and microorganisms. In Soil Biochemistry. Ed Dekker, Inc, 7: 307-393. In ANNABI. M, 2005. Stabilisation de la structure d'un sol limoneux par des apports de composts d'origine urbaine: relation avec les caractéristiques de leur matière organique. Thèse Doct. INRA, paris,27532

REFERANCES BIOBLOGRAPHIQUE

- **ROGET P et GARCIA J.L. (2001).** Introduction à la microbiologie du sol. Marseille : Université de Provence. PP :193
- **SCHIMANN. H,(2005).** Impacts de perturbations liées à l'orpaillage sur l'évolution des communautés et fonctionnalités microbiennes d'un sol. Thèse Doct. ENGREF,103p.
- **SOLTNER. D, 2005.** Les bases de la production végétale. Le sol et son amélioration. Tome I, 24ème édition; collection Sciences et techniques agricoles.
- **TOZE , S. (1997).** Microbial pathogens in waste water. CSIRO Land and Water Technical report 1/97

ANNEXES

ANNEXE

Annexe 01: Arrêté interministériel correspondant au 2 janvier 2012

Arrêté interministériel correspondant au 2 janvier 2012 fixant
les spécifications des eaux usées épurées utilisées à des fins
d'irrigation, paramètres microbiologiques

Groupe de cultures	Paramètres microbiologiques	
	Coliformes fécaux UFC /100ml moyenne géométrique	Nématodes intestinales œufs/ 1 moyenne arithmétique
Irrigation non restrictive Culture de Produits pouvant être consommés crus	100	absence
Légumes qui ne sont consommés que cuits Légumes destinés à la conserverie ou à la transformation non alimentaire	250	0.1
Arbres fruitiers ^① Cultures et arbustes fourragers ^② Cultures céréalière Cultures industrielles ^③ Arbres forestiers Plantes florales et ornementales ^④	Seuil recommande 1000	1
Cultures du groupe précédent UFC /100 ml utilisant l'irrigation localisées ^⑤ ^⑥	Pas de normes recommandées	Pas de normes recommandées

- 1) L'irrigation doit s'arrêter deux semaines avant la cueillette, aucun fruit tombé ne doit ramasser sur le sol, l'irrigation par aspersion est à éviter.
- 2) Le pâturage direct est interdit et il est recommandé de cesser l'irrigation au moins une semaine avant la coupe.
- 3) Pour les cultures industrielles et arbres forestiers, des paramètres plus permissifs peuvent être adoptés

ANNEXE

ANNEXE 02 : gélose nutritive à l'extrait de terre POCHON, 1954

Extraitdeviande1g

Extraitdelevure2

Chlorure de sodium01

5

Peptone...10g

Agaragar...15g

Extraitdeterre100ml

-Dissoudre les constituants dans 900 ml d'eau distillée, puis dans l'autoclave à 121°C pendant 15 min

ANNEXE 3-Milieu de culture de champignon(OGA)

OGA... 30g

Eaudistillée 1000ml

La préparation de ces milieu et comme suite:

-dissoudre sous un bec bunsen les constituants de milieu dans une petite quantité d'eau distillée puis compléter le volume jusqu'à un litre.

-ajuster le PH de milieu.

-repartir le mélange dans des flacons fermé et autoclave à 112 °C pendant 20 min.

-conserver le milieu au réfrigérateur jusqu'au moment de l'utilisation.

ANNEXE 4 :Azotobacters (milieu Ashby)

Glucose..... 10g

K₂HPO₄ 0.2g

MgSO₄ 0.2g

K₂SO₄..... 0.1g

CaCO₃..... 5g

Géloseoul'Agar... 15g

Eaudistillée 1000ml

ANNEXE

ANNEXE 05 : Préparation de l'extrait de terre

Choisir un terre assez riche (type terre de jardin) de Ph neutre ou légèrement alcalin et autant que possible, employer toujours la même terre.

-mélanger à poids égal terre et eau du robinet (si n'est pas exagérément chlorée), ou mieux eau de source ou de puits. Laisser macérer 24h à la température du laboratoire.

Porter à l'autoclave 1h à 30°C. Laisser décanter et filtrer à chaud sur papier. Vérifier le ph qui doit être voisin de la neutralité. Repartir en récipient bouchés au coton, stériliser 20 minutes à 112°C.

ANNEXE 6: Point de prélèvement des eaux usées épurées



ANNEXE 7: Point de prélèvement de la boue



ANNEXE 8 : Point de prélèvement des tomate et du sol épanché par la boue



ANNEXE 9 : Mode opératoire pour la recherche des salmonelle

L'incubation se fait à 37°C pendant 24h

Jour 01 :

- On effectue un premier enrichissement sur SFB D/C et S/C soit:
- Ajouter 100ml de la solution mère dans un flacon de 100ml de SFB D/C additionné de 04ml d'additifSFB.
- Ajouter 10ml de la solution mère dans un flacon de 100ml de SFB S/C additionnée de 02ml d'additifSFB.

Jour 02 : à partir de SFB (D/C et S/C) on effectue :

- D'une part un premier isolement sur Hektoen+additifs.
- D'autre part un deuxième enrichissement sur SFB entubes.

Jour 03 : A partir de la gélose Hektoen, repérer les colonies vertes A partir du deuxième enrichissement, on effectue :

- D'une part un deuxième isolement surHektoen.
- D'autre part un troisième enrichissement sur SFB entubes

Jour 04 :

Répéter les caractères du TSI, puis procéder à :

Une identification biochimique, dont les tests sont :

- Oxydase, ONPG, Urée, Indole, TDA, ADH , LDC,ODC.

A partir du deuxième isolement sur Hektoen, repérer les colonies latose -(vert) puis ensemercer sur un tube de TSI.

A partir du troisième enrichissement effectuer un troisième isolement sur Hektoen.

Annexe 10 :Mode opératoire la recherche de vibrio

L'incubation se faite à 37°C pendant 24heures

1. Cette recherche nécessite une pesé de 50g du produit à analyser qu'on doit diluer dans 500ml d'eaustérile.
2. Après la période d'incubation, on effectue un premier enrichissement sur EPA 10fois concentré (eau peptonée alcaline), on verse le contenu du premier flacon d'EPA 10xC jusqu'au trait de500ml.
3. A partir du flacon D'EPA 10xC, on effectue:
 - D'une part un deuxième enrichissement sur EPA tube
 - D'autre part un premier isolement surGNAB.

4. Après la période d'incubation:

- A partir de la boîte de GNAB, repérer les colonies transparentes (sous forme de goutte d'eau) puis effectue l'oxydase de la moitié de la colonie et l'autre moitié ensemercer sur TSI (ou KIA)tube.
- A partir du deuxième enrichissement sur EPA tube, on effectue :
 - D'une part un deuxième isolement sur GNAB.
 - D'autre part un troisième enrichissement sur EPA tube.

Annexe 11 :Mode opératoire staphylococcus

L'incubation se fait à 37°C pendant 24h. Cette recherche nécessite d'abord la préparation du milieu d'enrichissement à savoir 5ml de Tellurite de potassium dans un flacon de Giolitti Cantoni :

Prendre aseptiquement 0,1ml des dilutions 1, 10^{-1} , 10^{-2} ...dans des tubes secs stériles, puis ajouter dans chaque tube 15ml du milieu d'enrichissement

Après la période d'incubation les tubes ayant virés au noir seront considérés comme positifs. A partir de ces tubes, effectuer des isolements sur le milieu de Chapman

Après le délai d'incubation, repérer les colonies suspectes : le staphylocoque se présente sur milieu de Chapman sous forme de colonies de taille moyenne lisse et pigmentée en jaune.

Effectuer une réaction catalase sur ce type de colonies à l'aide d'eau oxygénée ; en tenant compte du fait que le staphylocoque est catalase +.

Le caractère de pathogénicité est effectué ensuite par le test de staphylocoagulase à l'aide du plasma du lapin.

Annexe 12 : Mode opératoire pour la recherche coli

a. Test de présomption:

A partir de la dilution mère, porter aseptiquement :

- 5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham.
- 1ml dans un tube contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham.
- 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham

Incubation : Incuber à 37°C pendant 24 heures

Lecture : Après la période d'incubation, les tubes présentant :

- D'une part un dégagement de gaz dans la cloche.
- D'autre part un trouble microbien, sera considéré comme positifs.

Le résultat sera exprimé par le NPP selon la table de Mac Grady.

b. Teste de confirmation

Chaque tube de BCPL positif, sera repiqué sur milieu Shubert. Après incubation à 44°C pendant 24heures on ajoute 02 à 03 gouttes du réactif de Kovacs pour voir l'apparition d'un anneau rouge qui témoigne de la production d'indole par les coliformes fécaux (*E. coli*).

Les résultats sont exprimés selon la table de Mac Grady.

ANNEXE
