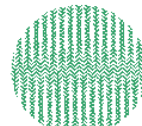


Procédés de dépollution et microorganismes pathogènes

Nathalie Wéry

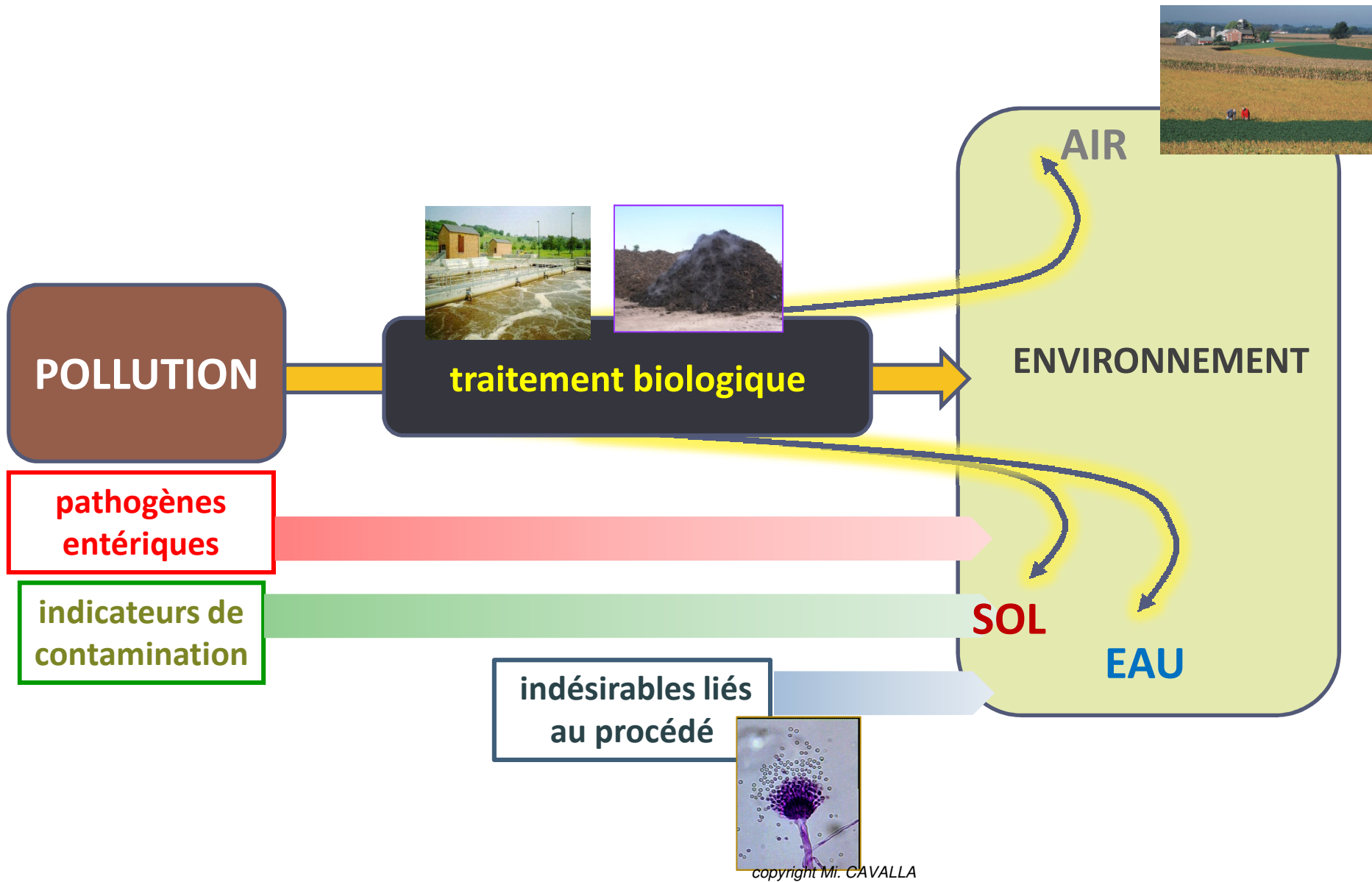
Ecole chercheurs

*'Biotechnologies pour le traitement de
l'eau et des déchets' - juin 2011*



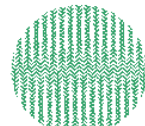
INRA





Procédés de dépollution et microorganismes pathogènes

1. Traitement des eaux usées et pathogènes
2. Cycles de contamination
3. Devenir lors du traitement des boues
4. Devenir après rejet dans l'environnement
5. Nouvelles approches



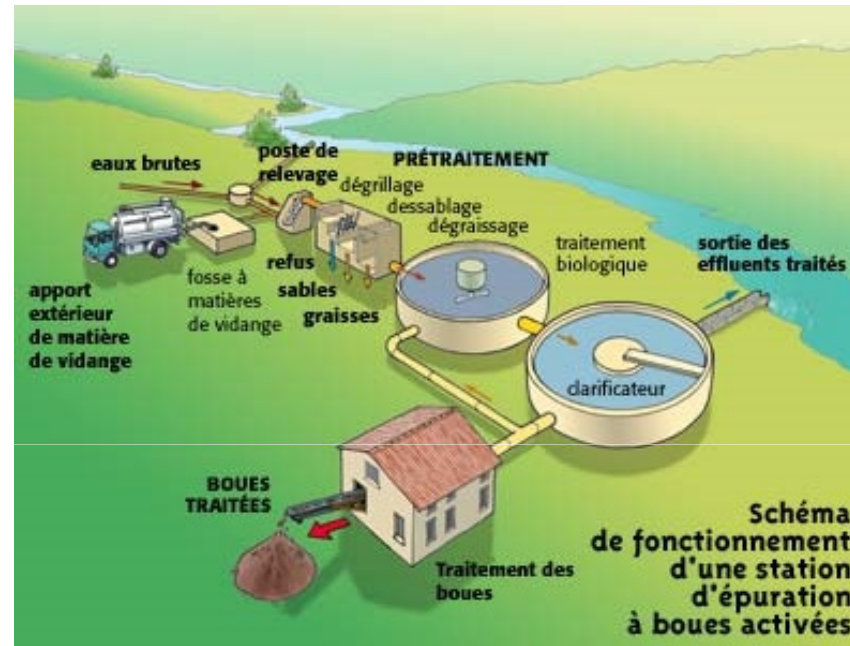
INRA



TRAITEMENT DES EAUX USEES

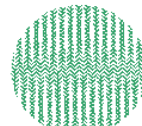
ET

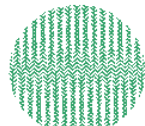
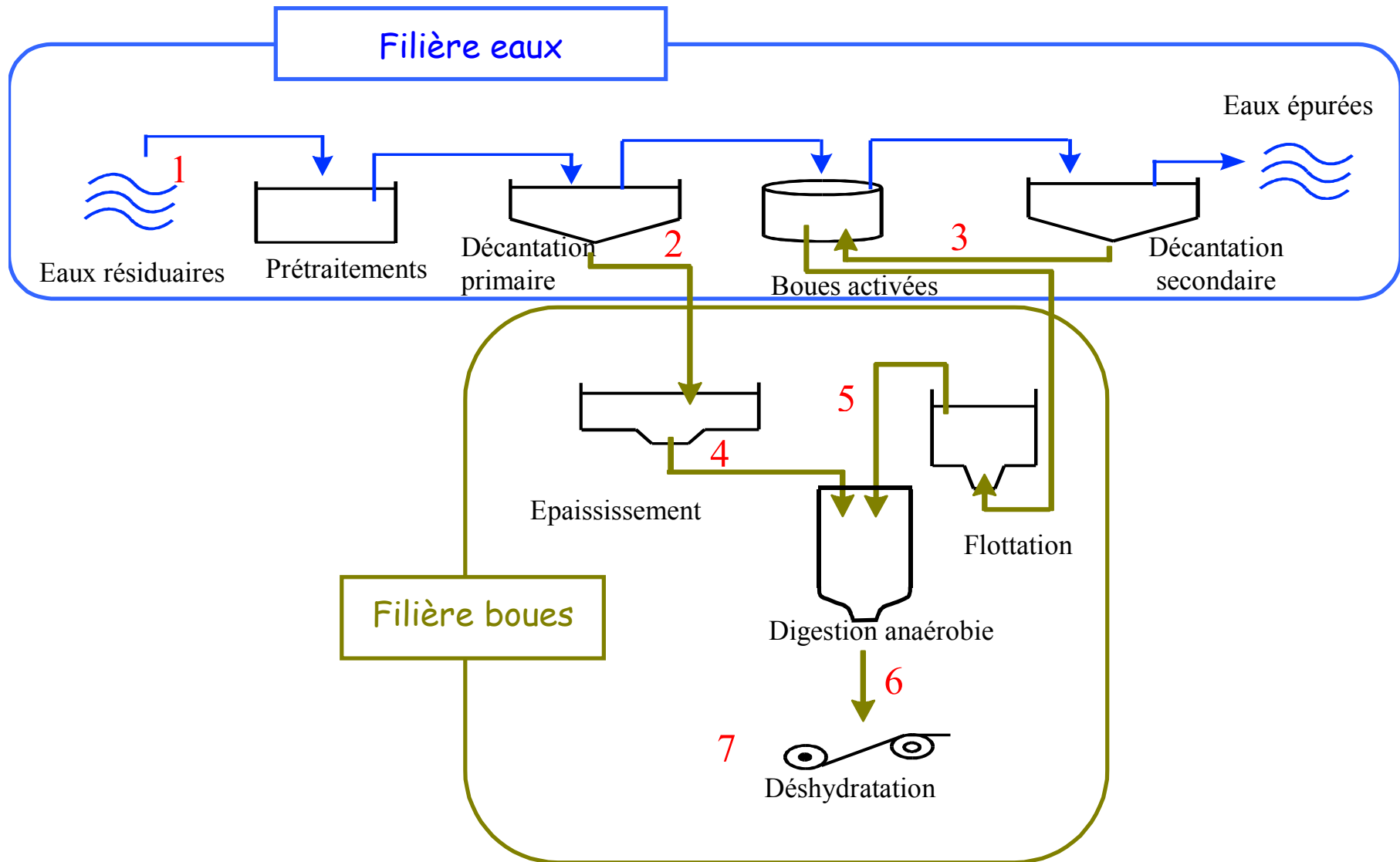
MICROORGANISMES PATHOGENES



Stations primaires

- Stations physico-chimiques
- Stations à boues activées
- Stations à lits bactériens
 - Lagunage naturel





INRA



Devenir des boues

→ incinération

→ épandage



→ mise en décharge

Augmentation constante des volumes produits
du fait de l'augmentation du nombre de raccordements
(directive européenne)



INRA



Boues = fertilisant peu onéreux
pratique de l'épandage en usage depuis plus de 30 ans
permet de recycler la matière organique nécessaire au sol



Voie de valorisation la plus prometteuse

MAIS:

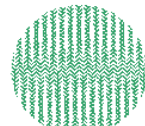
Risques chimiques et **microbiologiques**



INRA



LES MICROORGANISMES DES BOUES D'EPURATION URBAINES



Microorganismes saprophytes (majoritaires)

(vivant et se reproduisant de manière autonome dans le milieu extérieur en y puisant leur énergie et leurs nutriments)

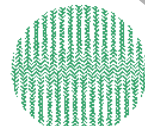


Traitements biologiques des eaux

Microorganismes du tube digestif de l'homme et des animaux,

(commensaux
voire profitables à leurs hôtes
-symbiotiques-)

Minoritaires :
flore potentiellement
pathogène



Les microorganismes du tube digestif

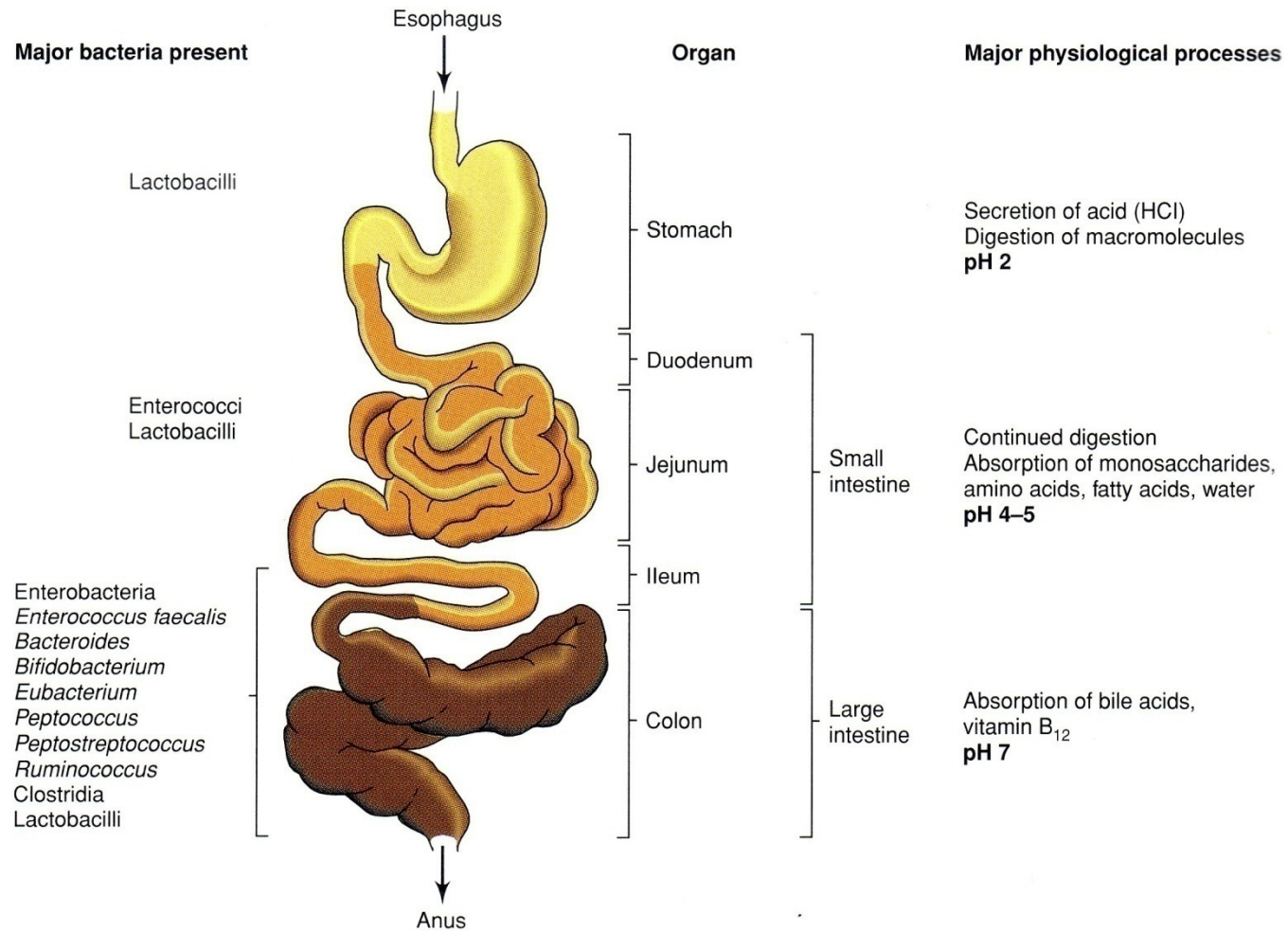
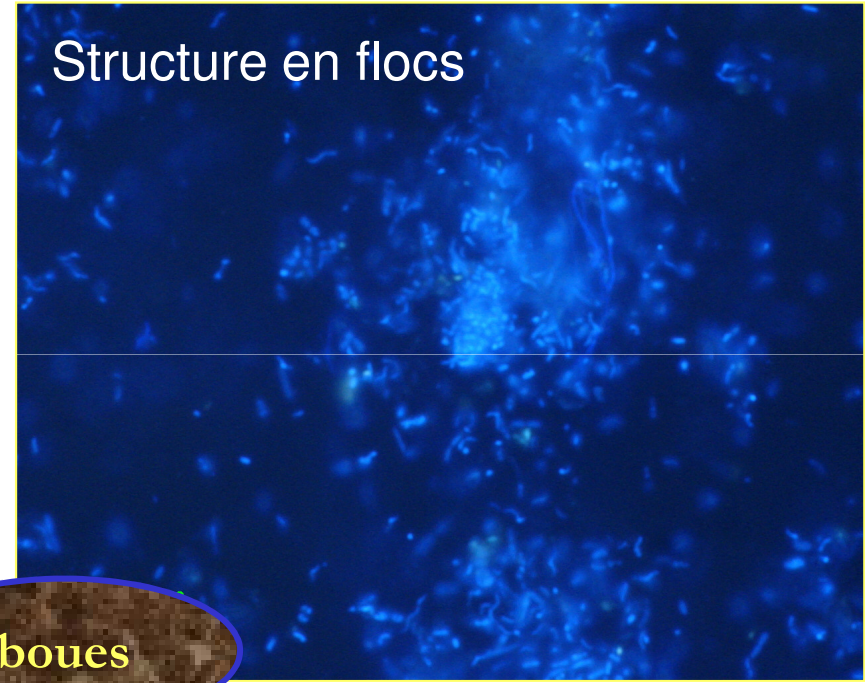


Figure 19.11 The human gastrointestinal tract showing functions and the distribution of microorganisms.

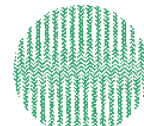


effluent



boues

LES PATHOGENES DES BOUES D'EPURATION URBAINES



Les pathogènes des boues

Les boues d'épuration contiennent des micro-organismes vivants en provenance des eaux usées et des processus de traitement.

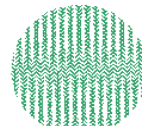
Seule une infime partie d'entre-eux sont pathogènes .

- anthropo-zoopathogènes et zoopathogènes

Ils présentent un danger certain :

surveillance de la qualité des boues,
précautions lors des épandages,
traitements d'hygiénisation.

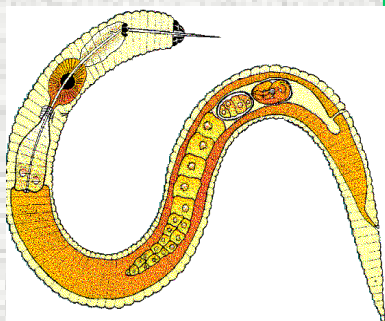
- micro-organismes phytopathogènes.



INRA



Les 5 types de pathogènes

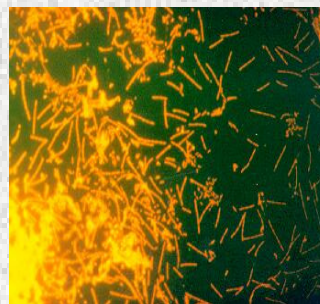


métazoaires

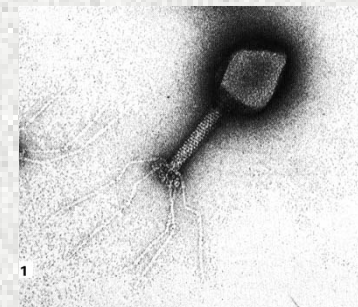
(helminthes, vers..)



Protozoaires



bactéries



virus

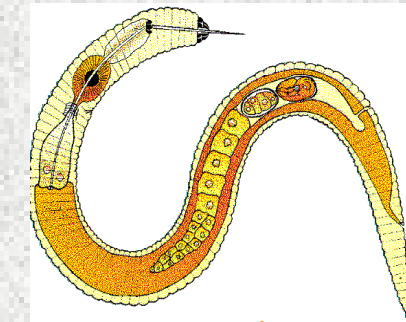
PARASITES

Famille	Genre	Espèce	Maladies provoquées
<i>Picornaviridae</i>	<i>Enterovirus</i> <i>Hepatovirus</i>	Virus polyomyélitiques	Paralysie, méningite, fièvre, poliomyélite
		Virus Caxsackie A	Méningite, infection respiratoires
		Virus Caxsackie B	Myocardite, éruption cutanée, méningite, fièvre, infection respiratoire, pleurodynie
		Echovirus	Méningite, infection respiratoire, éruption cutanée, fièvre, diarrhée
		Enterovirus 68 à 71	Méningite, encéphalite, atteinte des voies respiratoires, conjonctivite hémorragique
<i>Reoviridae</i>	<i>Reovirus</i> <i>Rotavirus</i>	Virus de l'hépatite A	Hépatite infectieuse
		Réovirus humains	Non établi
<i>Caliciviridae</i>	<i>Norwalk-like virus</i> <i>Sapporo-like virus</i>	Rotavirus humains	Gastro-entérite
			Gastro-entérite
			Gastro-entérite
<i>Coronaviridae</i>	<i>Astrovirus</i> <i>Coronavirus</i>	Virus de l'hépatite E	Hépatite infectieuse
		Astrovirus humains	Gastro-entérite
<i>Adenoviridae</i>	<i>Mastadenovirus</i>	Coronavirus humains	Entérocolite
		Adenovirus humains	Infection respiratoire, conjonctivite et gastro-entérite

D'après : Dumontet, 1997, Schwartzbrod, 1999, Cadiergues, 2000, Garrec, 2004

helminthes ou métazoaires = vers

cestodes (ténia, bothriocéphale,...) +
trématodes (vers plats: petites et grandes douves, bilharzies...) +
nématodes (vers ronds : ascaris, Toxocara, oxyures, strongles, ankylostomes, trichines...)



métazoaires

(helminthes, vers..)



Protozoaires

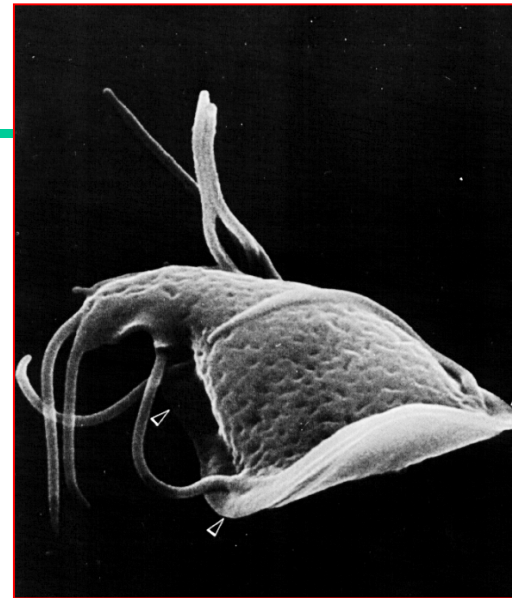
protozoaires = unicellulaires

milieux aquatiques pour la plupart ou en association avec un hôte (relation commensale voire symbiotique)

les parasites sont minoritaires : *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Sarcocystis*, *Toxoplasma*, coccidies etc...

Sous-règne	Classe	Genre	Maladie provoquée
Protozoaires	Rhizopodes	<u><i>Entamoeba histolytica</i></u>	Amibiase
	Flagellés	<u><i>Giardia intestinalis</i></u>	Dysenterie
	Sporozoaires	<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmose
		<i>Isospora belli, I. hominis</i>	Coccidiose
Métazoaires	Nemathelminthes	<u><i>Cryptosporidium parvum</i></u>	Cryptosporidiose
		<i>Enterobium vermicularis</i>	Oxyurose
		<i>Trichuris trichura</i>	Trichocéphalose
		<u><i>Ascaris lumbricoides</i></u>	Ascariidiose
		<i>Necator americanus</i>	Ankylostomose
		<i>Ankylostoma duodenale</i>	Ankylostomose
		<i>Strongyloides stercoralis</i>	Anguillulose
	Plathelminthes	<i>Toxocara canis, T. cati</i>	Toxocarose
		<u><i>Taenia saginata, T. solium, T. hydatigena</i></u>	Taeniasis intestinale
		<i>Hymenoleptis nana, H. diminuta</i>	Hyménolépiose
		<i>Echinococcus granulosus, multilocularis</i>	Echinococcose

PROTOZOAIRES



Giardia

VERS



Œufs de Taenia



Toxocara canis

protozoaire flagellé de l'intestin humain
formant des **kystes qui résistent
aux agents chlorés**

Les kystes germent dans la partie
gastrointestinale et causent diarrhées,
crampes intestinales, nausées, malaises...



origine des épidémies:

**eaux de surface considérées comme
d'excellente qualité,**

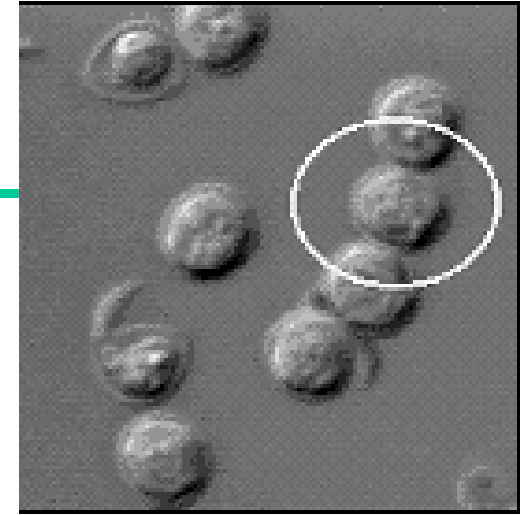
exempte de contamination fécale

non traitées ou avec désinfection sans coagulation - filtration

Cryptosporidium parvum

coccidies parasites de l'homme et des animaux

résistants à beaucoup de désinfectants dont le chlore → utiliser la sédimentation et la filtration

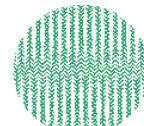


à l'origine de nombreuses épidémies aux Etats-Unis

- 1987: épidémie à Carrollton en Georgie (16 000 habitants)
eau traitée par coagulation, sédimentation, filtration puis désinfection
taux de chlore résiduel libre étant de 1,5 mg/L à la station de traitement
- 1993: contamination de 370 000 habitants de Milwaukee (Wisconsin).
mort de 104 immuno-déprimés



mise en place d'un traitement à base d'ozone après 1993



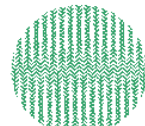
Responsable d'amibiose

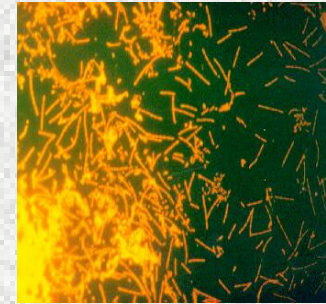
transmis par des eaux ou des aliments contaminés

amibe anaérobie (pas de mitochondries) produisant des kystes qui germent dans les intestins → croissance sur et dans les cellules de la muqueuse intestinale avec formation d'ulcères → diarrhées et crampes

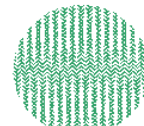
source :

- traitement des eaux usées inefficace,
- utilisation des eaux de surface non traitées comme boisson.



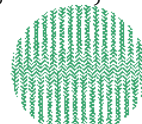


bactéries



Famille	Genre	Espèce	Maladie provoquée
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	Gastro-entérites, septicémies, infections des voies urinaires et de la vésicule biliaire
	<u><i>Salmonella</i></u>	<i>S. thyphi</i>	Fièvre typhoïde
		<i>S. parathyphi</i>	Fièvre paratyphoïde
		<i>S. thyphimurium</i>	Toxi-infections
	<i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae</i>	Dysenterie bacillaire
		<i>S. flexneri</i>	Dysenterie bacillaire
		<i>S. sonnei</i>	Dysenterie bacillaire
		<i>S. boydii</i>	Dysenterie bacillaire
	<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	Entérocolite, septicémie
<i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio</i>	<i>V. cholerae</i>	Choléra
	<i>Plesiomonas</i>	<i>P. shigelloides</i>	Maladies diarrhéiques
<i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Gastro-entérites, infections diverses
<i>Micrococaceae</i>	<u><i>Staphylococcus</i></u>	<i>S. aureus</i>	Maladies diarrhéiques, infections diverses
<i>Spirillaceae</i>	<u><i>Campylobacter</i></u>	<i>C. jejuni, C. coli</i>	Gastroentérites
	<i>Clostridium</i>	<i>C. perfringens</i>	Entérotoxémies, gangrènes
	<i>Leptospira</i>	<i>L. interrogans</i>	Leptospirose
	<u><i>Listeria</i></u>	<i>L. monocytogenes</i>	Listeriose
	<i>Mycobacterium</i>	<i>L. tuberculosis</i>	Tuberculose
<i>Legionellaceae</i>	<u><i>Legionella</i></u>	<i>L. pneumophila</i>	Legionellose

D'après : Dumontet, 1997, Schwartzbrod, 1999, Cadiergues, 2000, Garrec, 2004



Différents pathogènes
suivant l'origine des boues

BACTERIES	BOUES				Maladies	ESPECES CIBLES						
	URB	MMF	VOL	LAI		BV	OV	CP	CV	PC	H	autres
<i>Bacillus anthracis</i>	(+)				charbon	+	+	+	+	+	+	
<i>Brucella spp.</i>		(+)		(+)	brucellose	++	++	++	+	+	+	cervidés
<i>Campylobacter jejuni</i>	+	+	+	±	diarrhée	+	+	+	+	+	+	Oiseaux
<i>Clostridium spp.*</i>	+	+	±		gangrènes	+	+	+	+	+	+	Variés
<i>Escherichia coli</i>	+		+	±	colibacillose	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
<i>Legionella pneumophila</i>	+				legionellose					+	+	
<i>Leptospira interrogans</i>	+	+		±	leptospirose	+	+	+	+	+	+	rongeurs
<i>Listeria monocytogenes*</i>	+	++		++	légiellose	+	+	+	+	+	+	variés
<i>Mycobactéries</i>	(+)	+	(+)	(+)	tuberculose	+	+	+	+	+	+	Cervidés, blaireaux
<i>Pseudomonas aeruginosa*</i>	+	+	+	±	infections	+	+	+	+	+	+	
<i>Salmonella spp.</i>	+		±		salmonellose	+	+	+	+	+	+	variés
<i>Shigella spp.</i>	(+)				shigellose						+	
<i>Staphylococcus spp.</i>	+	+	+	±	Staphylococcie	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
<i>Streptococcus spp.</i>	+	+	+	±	Streptococcie	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
<i>Yersinia enterocolitica*</i>	+	+	+	±	yersiniose	+	+	+	+	+	+	Oiseaux, rongeurs

* germes normalement présents dans l'environnement

spécificité et espèces cibles: *Shigella* sp. n'infecte que l'homme, *Leptospira* sp. peut infecter tous les mammifères



Bacilles à Gram -, famille des *Enterobacteriaceae*

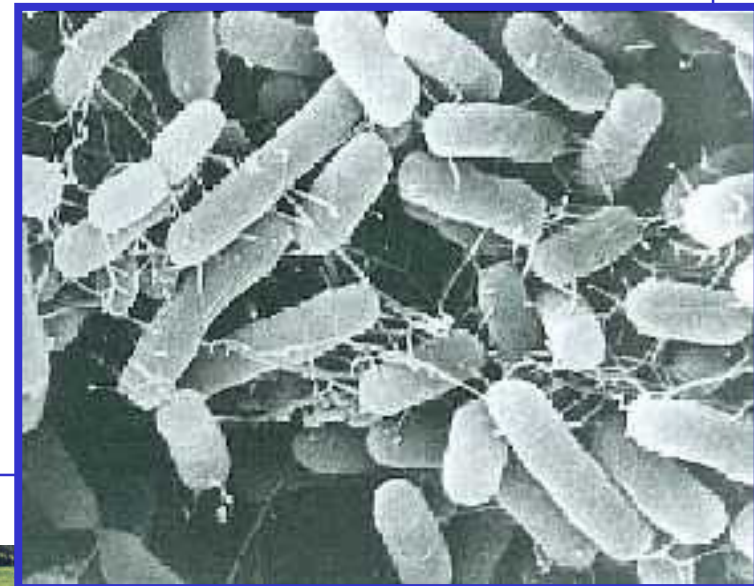
origine : tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Largement répandu chez les animaux, notamment dans les élevages de volaille et les porcheries

contamination: par voie buccale (aliments souillés ou eau contaminée).

sources de contamination : sol, eau, fèces animaux, viandes crues, œufs, produits laitiers...

symptômes : nausées, crampes abdominales, diarrhée, fièvre, maux de tête
formes septicémiques (fièvre typhoïde),
formes digestives (toxi-infections alimentaires).

dose infective élevée : $10^5 - 10^9$ cellules



fréquence d'infection :

2-4 millions de salmonelloses /an aux USA(↑ depuis 10 ans dans les pays industrialisés)
Salmonella enteritica sub species enteritica = 99 % des *Salmonella* impliquées

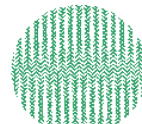
Survie :

sensibles à la chaleur, non détectables après 1 h à 55°C ou 15 à 20 min à 60°C
En conditions de compostage, elles sont non détectées après 7 jours à 40-55°C
ou 5 jours à 60°C (Baltazar et Lucero-Ramirez, 2000)

survie pendant plus de 3 mois dans des fèces desséchés
(survie favorisée par la présence de matière organique).

Réglementation :

1 des 6 germes pour analyse de la conformité à la norme NFU 44095 d'un compost
de boues + décret de décembre 1997 relatif à l'épandage des boues



***Campylobacteraceae*, epsilon-proteobacteries**
bacilles Gram- incurvés
microaérophile

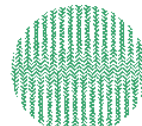
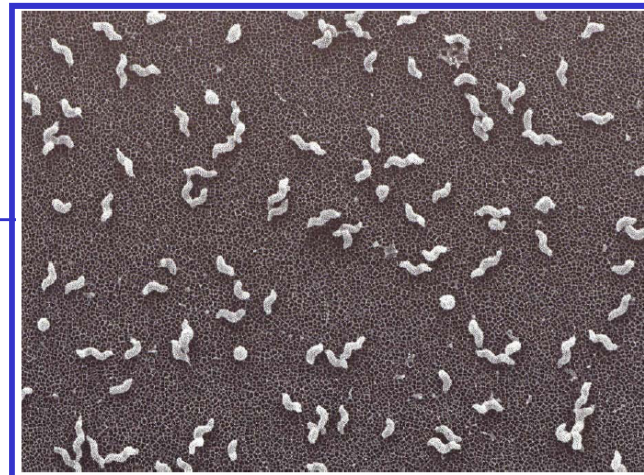
Principale bactérie source de diarrhées dans les pays industrialisés (> *Salmonella*)

sources de contamination : animaux porteurs sains (**volaille**, vaches, mouches...)
+ rivière, étangs, eau non chlorée + viande (volaille)

symptômes : diarrhée, fièvre, maux de tête, nausées, crampes abdominales,
douleurs musculaires, stérilité et avortement chez les animaux d'élevage

dose infective faible

fréquence d'infection élevée

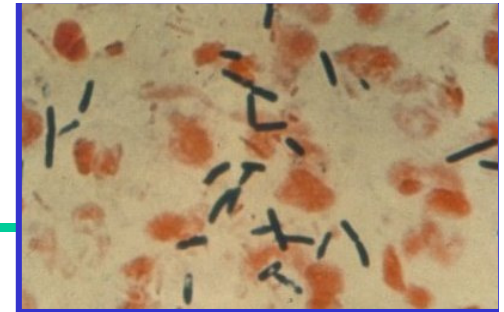


INRA



Lbe *Clostridium perfringens*

Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; *Clostridiaceae*



Largement répandu dans l'environnement, présent dans les intestins humains et animaux; spores persistent dans le sol, les sédiments et les zones de pollution fécale humaine ou animale

→ **indicateur de pollution fécale**

symptômes : diarrhée et crampes abdominales intenses (toxines)

dose infective : 10^8 cellules végétatives

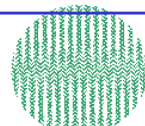
fréquence d'infection : 10 000 cas/an (USA)

Survie :

Les spores de *Clostridium perfringens* sont non détectables après 10 min à 80°C.

Réglementation :

1 des 6 germes pour analyse de la conformité à la norme NF U 44095 d'un compost de boues.



INRA



Epidémies d'origine hydrique aux USA

MALADIE	AGENT	EPIDEMIES ^a (%)	CAS ^b (%)
BACTERIES			
Fièvre typhoïde	<i>Salmonella typhi</i>	10	0.1
Shigellose	<i>Shigella</i> spp.	9	2.6
Salmonellose	<i>Salmonella paratyphi</i> et autres salmonelles	3	3.5
Gastroentérites	<i>Escherichia coli</i>	0.3	0.7
	<i>Campylobacter</i> spp.	0.3	0.7
VIRUS			
Hépatite infectieuse	Virus de l'Hépatite A	11	0.5
Diarrhée	Virus Norwalk	1.5	0.6
PROTOZOAIRE			
Giardiose	<i>Giardia lamblia</i>	7	3.8
Cryptosporidiose ^c	<i>Cryptosporidium parvum</i>	0.2	71
INCONNU			
Gastroentérites		57	16,7

a. Parmi plus de 650 épidémies dans les dernières décades

[Centres for Disease Control, Atlanta]

b. Parmi 520 000 cas sur la même période

c. une seule épidémie de cryptosporidiosis en 1993 est responsable de maladies chez 370,000 individus (Milwaukee, Wisconsin)



Éléments spécifiques produits par les bactéries et les champignons

1. Exotoxines et endotoxines

Toxines : substances solubles qui altèrent le métabolisme normal des cellules de l'hôte

Exotoxines : protéines produites par les bactéries et secrétées, fort pouvoir antigénique agissent à des taux très faibles, substances biologiques toxiques parmi les plus puissantes

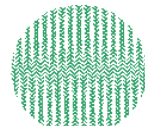
Endotoxines : lipopolysaccharides de la membrane externe des bactéries G-, se comportent comme des toxines dans certaines conditions (lyse)

2. Mycotoxines

Métabolites fongiques produits par des champignons microscopiques, fixés au niveau des spores ou excrétés dans le milieu contaminé

3. Glucanes

Polysaccharides composés d'unité glucoses



Classement des agents biologiques

Groupe 1

Non pathogènes

Groupe 2

Peut provoquer maladie, danger potentiel pour les travailleurs, propagation dans la collectivité peu probable, traitements existants

E. coli pathogènes, *Salmonella* sp.,
Aspergillus fumigatus,
virus de l'hépatite A,
Cryptosporidium sp.,...

Groupe 3

Peut provoquer maladie grave, danger sérieux pour les travailleurs, propagation dans la collectivité possible, traitements existants

Virus Hépatite B et C

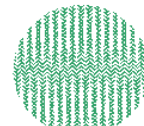
Groupe 4

Provoque maladie grave, danger sérieux pour les travailleurs, propagation dans la collectivité élevée, pas de traitements

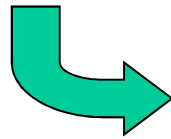
Virus Ebola, variole



LES INDICATEURS DE CONTAMINATION FECALE



☞ Grande diversité des micro-organismes pathogènes

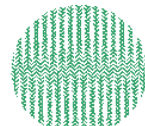


Recherche de germes « témoins »

d'origine intestinale

non pathogènes

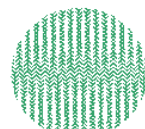
Présents systématiquement
en grand nombre dans les matières fécales



Principaux indicateurs actuels

Les principaux témoins de contamination fécale sont:

- les coliformes totaux,
- les coliformes fécaux ou thermotolérants,
- les streptocoques fécaux,
- les clostridies ou sporulés sulfite-réducteurs,
- les coliphages (virus des bactéries coliformes)



INRA



☞ **Coliformes à 37°C = coliformes totaux**

Toutes les espèces de coliformes se développant à 37°C
espèces d'origine fécale et environnementale

☞ **Coliformes fécaux = Coliformes à 44°C
= Coliformes thermotolérants**

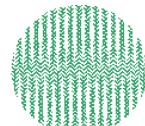
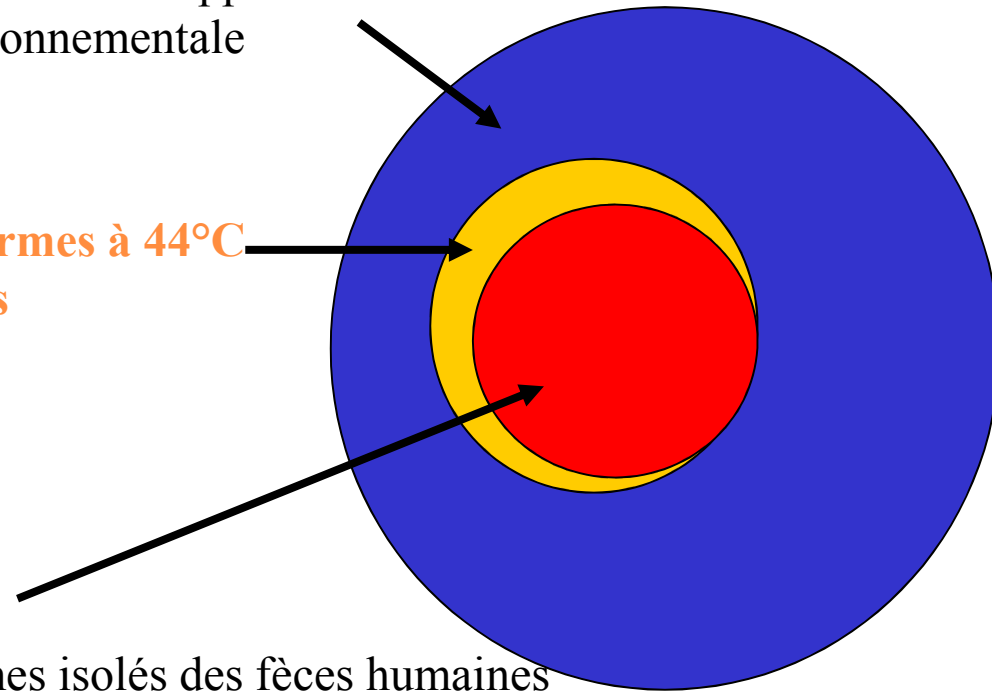
espèces d'origine fécale

☞ ***E.coli***

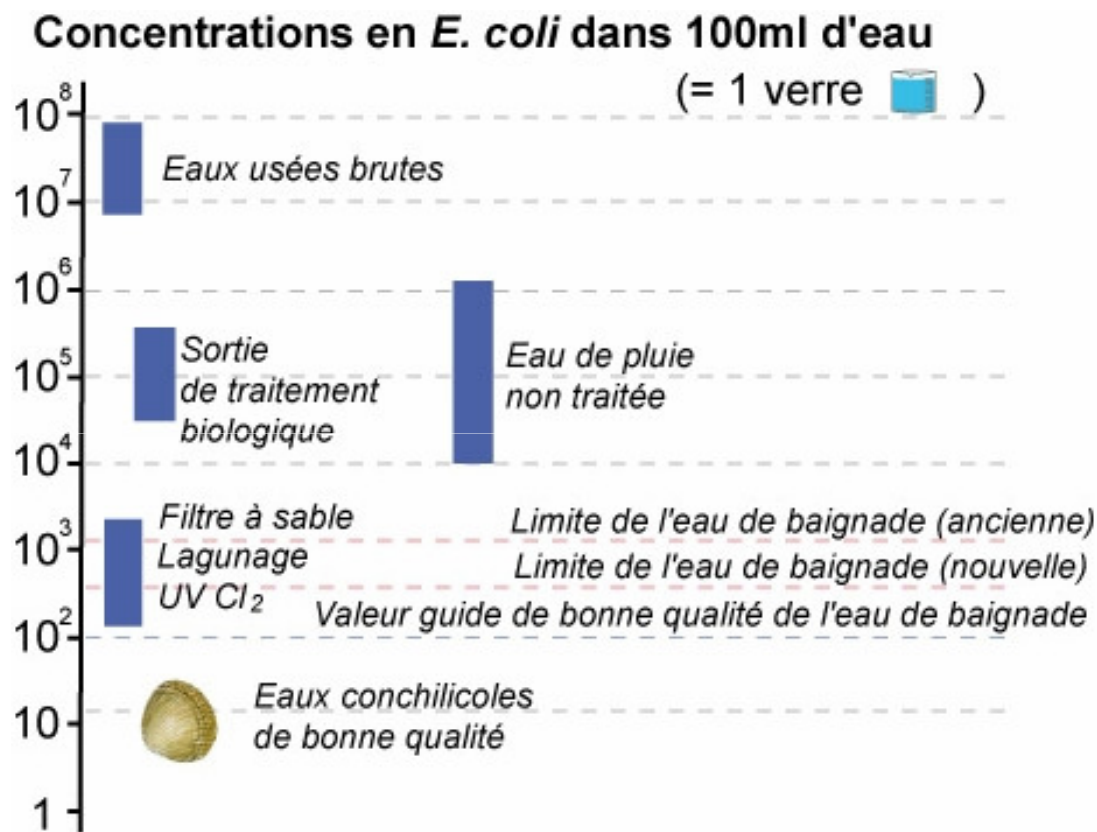
origine fécale est indiscutable

représente > 97% des coliformes isolés des fèces humaines

> 90% des fèces animales



Concentration moyenne en *E.coli* présente dans différents types d'eaux



Source : J.Duchemin – AESN

– 2007- d'après guide de réutilisation des eaux usées OMS 2006, bibliographie personnelle, mesures de terrain in situ dans diverses régions, et rapports de SATESE)



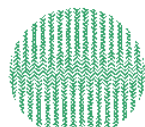
Indicateurs dans les boues :

- densité corrélée à celle de certains pathogènes

**Pb : constance des concentrations dans les matières fécales,
alors que les concentrations en pathogènes varient en fonction
de l'état sanitaire**

- résistance liée à celle de certains pathogènes

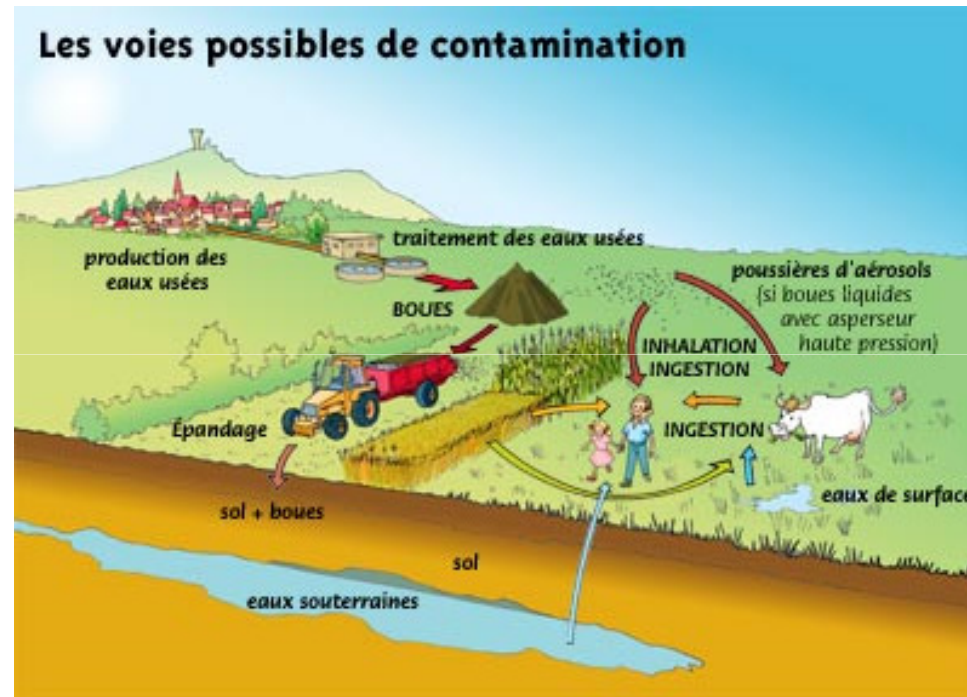
**SF survivent bien, peu enclin à recroissance
CSR : très bonne survie (spores)**



DISSEMINATION DES PATHOGENES

CYCLES DE CONTAMINATION

Les cycles de contamination



Cycles de contamination possibles

Eaux résiduaires urbaines
Effluents industriels
Eaux de pluie
Hôpitaux



STEP

Eaux
traitées



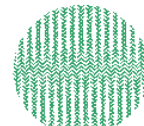
RIVIERES,
SEDIMENTS

boues



SOL, EAUX

HOMME,
PLANTES,
ANIMAUX



Cycles de contamination possibles

Eaux résiduaires urbaines
Effluents industriels
Eaux de pluie
Hôpitaux



TRAITEMENT

STEP

(Eaux traitées)



**RIVIERES,
SEDIMENTS**

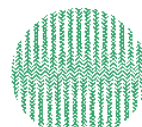
**HOMME,
PLANTES,
ANIMAUX**

boues

TRAITEMENT



SOL, EAUX

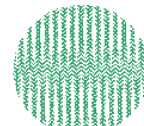


INRA



**DEVENIR DES
MICROORGANISMES PATHOGENES
LORS DU TRAITEMENT DES BOUES**

CHARGE DES BOUES EN PATHOGENES



Charge des boues en pathogènes

ORIGINE = eaux usées

CHARGE fonction de :

- l'état de santé des populations raccordées au réseau,
- du raccordement d'industries agro-alimentaires, abattoirs...
- des populations animales du réseau (rongeurs).

DEVENIR sur la filière de traitement :

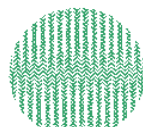
décantation (densité propre des œufs de parasites et des kystes de protozoaires; adsorption sur les matières particulaires pour les virus et les bactéries)



Elimination des
eaux usées



Accumulation
dans les boues



INRA



Charge des boues en pathogènes

Influence de l'état sanitaire de la population :

- région géographique, état des structures sanitaires
- influence plus importante pour les STEP de petite taille (effet tampon pour les grandes STEP)

Influence du réseau d'assainissement :

(type de traitement)
si réseau de collecte des eaux pluviales raccordé, forte influence de la pluie



Charge en pathogènes

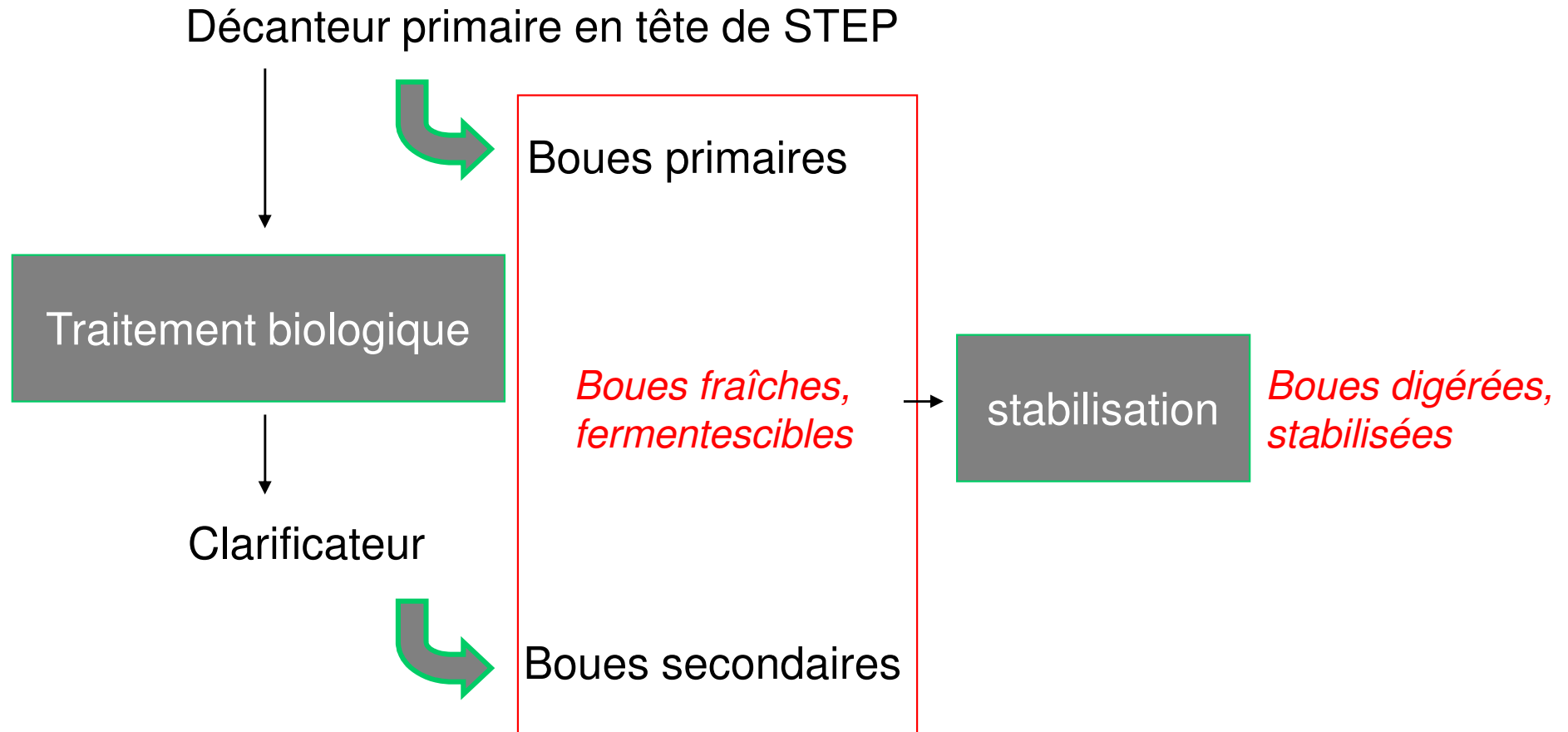
Influence des industries raccordées :

abattoirs, conserveries...
(fonction du volume d'eaux industrielles par rapport au volume total d'eaux collectées)

Influence du temps :

Certains pathogènes excrétés en permanence,
d'autres liés à des épidémies...

Rappel : boues primaires et secondaires



Bactéries et particules virales mises sur milieu de culture mesure = capacité de multiplication

bactéries :

NPP : nombre le plus probable

UFC : unités formant colonies

virus :

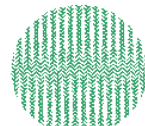
UCP : unités cytopathiques

NPPUC : nombre le plus probable d 'unité cytopathiques

UFP : unité formant plaque

Parasites : dénombrés individuellement (observation microscopique directe) l 'unité est le nombre d 'œufs ou le nombre de kystes
viabilité inconnue

Charges pour produits pâteux ou solides en g de matières sèches (g MS)



Charge des boues en pathogènes

Charge en micro-organismes pathogènes dans les boues d'épuration

(d'après ADEME, 1994 ; CSHPF, 1998)

Œufs d'helminthes	Boues primaires	$10^3-10^4/\text{kg}$
	Boues digérées	$10^2-10^3/\text{kg}$
	Boues semi-déshydratées	$10^1-10^3/\text{kg}$
Kystes de protozoaires (<i>Giardia</i>)	Boues primaires	$7.7 \cdot 10^4-3 \cdot 10^6/\text{kg}$
	Boues digérées	$3 \cdot 10^4-1 \cdot 10^3/\text{kg}$
	Boues déshydratées	$7 \cdot 10^1-10^2/\text{kg}$
Entérovirus	Boues primaires	nd- 10^3 NPPUC/10g
	Boues activées	nd-270 NPPUC/10g
	Boues épaissies	nd-72 NPPUC/10g
Bactéries (<i>Salmonella</i>)	Boues primaires	$10^2-10^3/\text{g}$
	Boues secondaires	$9 \cdot 10^2/\text{g}$
(Coliformes fécaux)	Boues primaires	$10^7-10^8/\text{g}$
	Boues secondaires	$10^6/\text{g}$
	Boues digérées	$10^2-10^6/\text{g}$

nd : non détecté ;

NPPUC : nombre le plus probable d'unités cytopathiques



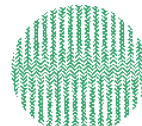
charge de notre environnement en micro-organismes :

SOL : autant de bactéries que les boues (10^8 - 10^9 /g)

EXCREMENTS D'ANIMAUX :

Chat : $7,9 \times 10^6$ coliformes fécaux / g de fèces
 27×10^6 streptocoques fécaux / g de fèces

LISIER DE PORC : 2×10^5 coliformes /ml.



INRA

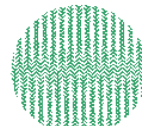




La plupart des données concernent les indicateurs



Charge dépend de nombreux facteurs : retenir l'ordre de grandeur



INRA



LES TRAITEMENTS DES BOUES

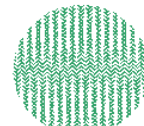
LES TRAITEMENTS HYGIENISANTS



Pourquoi traiter les boues?

forte charge en matière organique

hautement fermentescible



INRA



Les trois types de traitement et leurs objectifs

Traitements de **stabilisation** :
réduire la fermentescibilité des boues pour atténuer ou supprimer les
mauvaises odeurs

Traitements de **réduction de la teneur en eau** des boues :
diminuer la quantité de boues à stocker et à épandre,
ou améliorer leurs caractéristiques physiques (tenue en tas notamment)

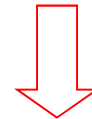
Traitements d' **hygiénisation**
éradiquer la charge en pathogènes



STABILISATION

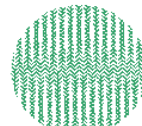
Procédé chimique ou biologique par lequel les substances organiques rapidement dégradables (dissoutes ou particulaires) sont transformées en matière soit inorganique (minérales), soit très lentement dégradables

(Norme NFU 44-041)



Réduction des nuisances olfactives

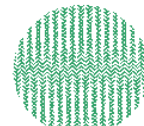
Peut permettre l'hygiénisation
(conséquence du traitement mais pas son objectif)



INRA



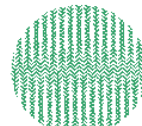
Stabilisation biologique
Stabilisation chimique
Séchage thermique



voie aérobie dans les bassins d'aération ou dans des bassins de stabilisation aérobie boues « aérobies » ou « stabilisées aérobies »

voie anaérobie (absence d'oxygène) dans des digesteurs avec production d'un biogaz riche en méthane.
boues « digérées » ou « anaérobies » ou « stabilisées anaérobies »

La stabilisation biologique est de loin le procédé le plus employé en France (plusieurs milliers de stations d'épuration), parfois en combinaison avec des procédés chimiques ou thermiques.



INRA



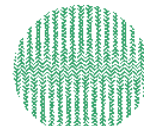
Digestion

Stabilisation aérobie

compostage

Principe : activité microflore saprophyte (anaérobie ou aérobie)
qui dégrade la matière organique

Stabilisation de la boue
(possibilités de fermentation ultérieure réduites)



INRA



Digestion

- production de biogaz
- réduction significative de la masse de matière sèche (environ 1/3)

- température de fermentation trop basse (37° C) pour l'hygiénisation.



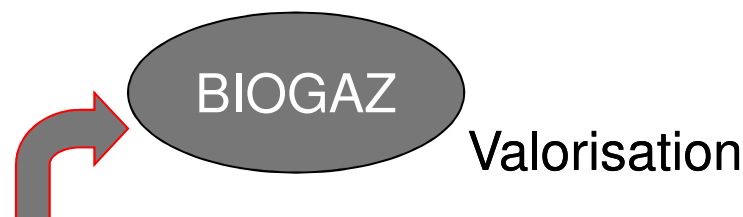
Stabilisation biologique

Digestion

Stabilisation aérobie

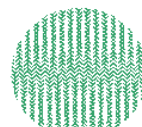
compostage

Microflore anaérobie



Digestion thermophile		55 °C	10j
Digestion mésophile	FRANCE	35 °C	14-21j
Digestion psychrophile en digesteur		20 °C	plus de 30j
Digestion psychrophile - lagunage		>0 °C	plusieurs années

↑
FRANCE



INRA



Stabilisation biologique

Digestion

Stabilisation aérobie

compostage

Boue liquide aérée par injection d 'air ou d 'oxygène

Microflore aérobie

Dégradation matière organique, production de chaleur

Stabilisation thermophile		53 °C	5-10j
Stabilisation mésophile		35 °C	14j
Stabilisation froide	FRANCE	20 °C	plus de 30j



Digestion

Stabilisation aérobie

compostage

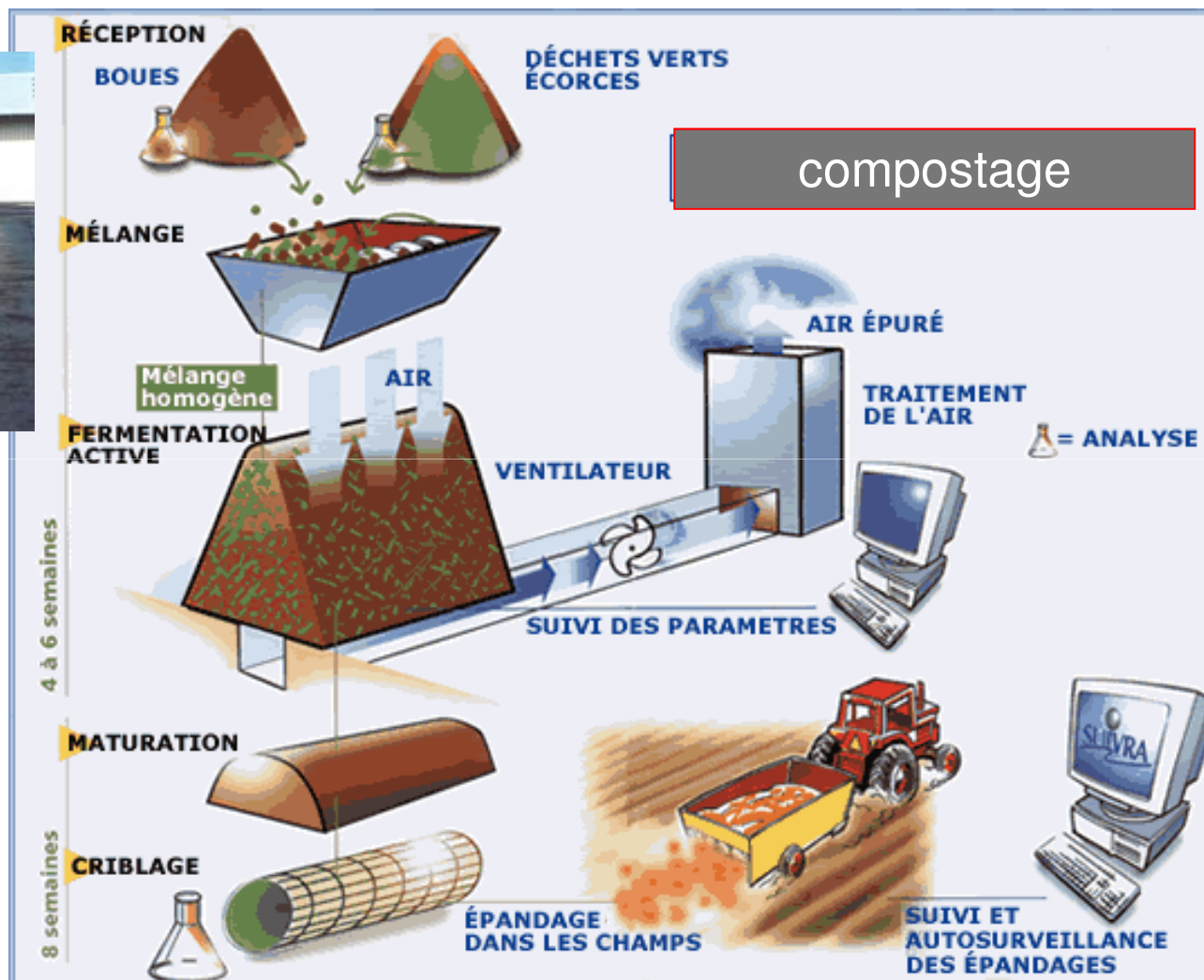
Stabilisation aérobie sur matériau solide

boue liquide ou pâteuse mélangée à un support structurant et carboné
(copeaux, paille, écorces, sciure, ...)

Phase thermophile

Type	aération	température	durée
andain	par retournements périodiques	50-70 °C	3-6j
tas	forcée (refoulement ou aspiration)	40-60 °C >55 °C	5-10 sem >10j
réacteur	forcée	50-70 °C	15j (min 48h)

Stabilisation biologique



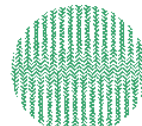
La stabilisation chimique bloque l'activité biologique, et donc l'évolution de la boue, par adjonction d'une quantité importante de chaux (10 à 50 % de la matière sèche, en général 30 %) élevant le pH au delà de 12.



INRA



effet temporaire de stabilisation (par absence d'eau),
persistant aussi longtemps que les boues ne sont pas
réhumectées.



INRA



HYGIENISATION

L 'hygiénisation doit permettre :

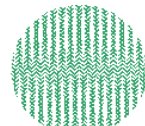
- la réduction de la contamination par des agents pathogènes,
- le blocage de tout re-développement des agents pathogènes.
(hygiénisation totale si pathogènes non détectés)



Les performances sanitaires

Paramètres :

- Réduction de la contamination pendant le traitement
- Capacité de blocage des recroissances ultérieures

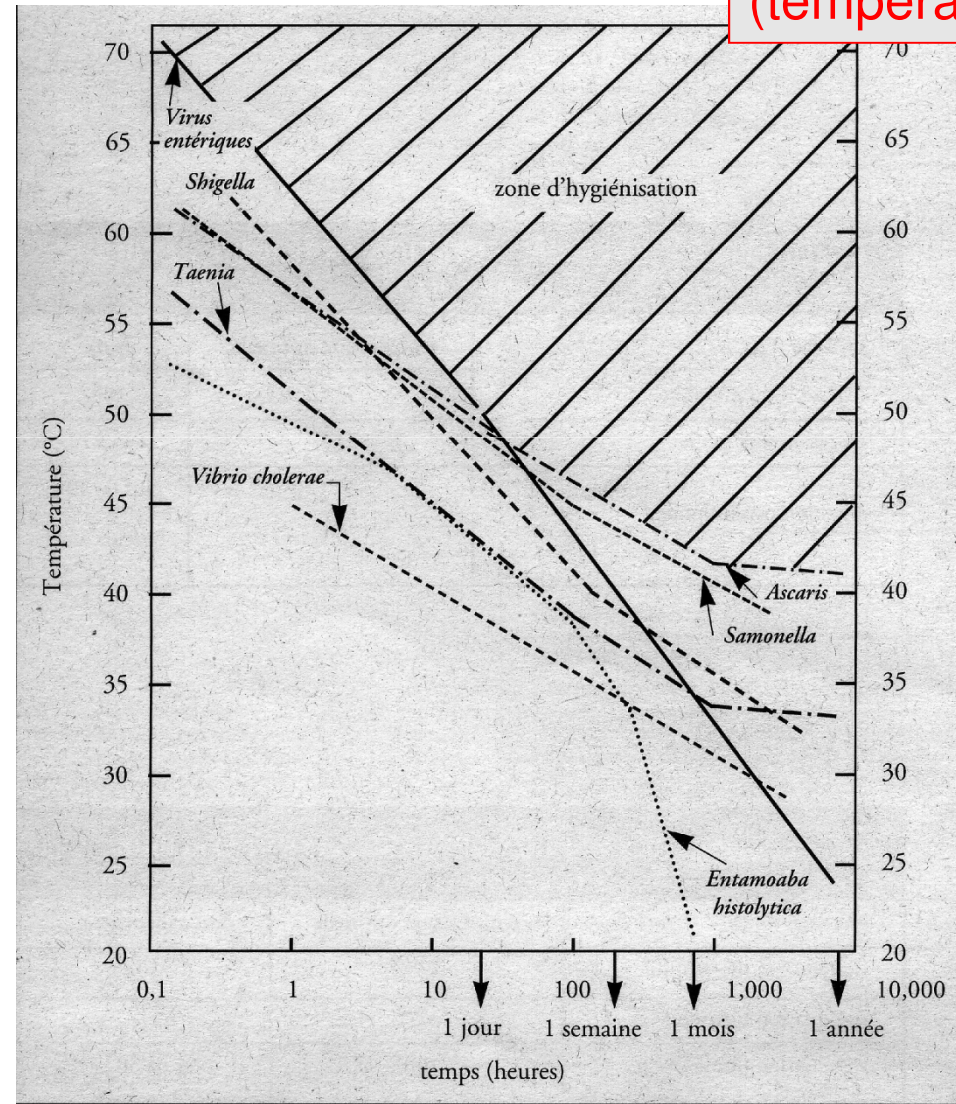


INRA



La survie des pathogènes

Importance du couple
(température; temps)



PRINCIPAUX FACTEURS INTERVENANT AU COURS DES DIFFERENTS TRAITEMENTS

	température	temps	pH
digestion anaérobie	■	■	
stabilisation aérobie	■	■	
compostage	■	■	
chaulage (chaux éteinte)		■	■
chaulage (chaux vive)	■	■	■
pasteurisation	■	■	
stockage		■	
lits séchage		■	



FACTEURS SECONDAIRES :

interviennent lorsque la mortalité par les facteurs principaux n'est pas trop rapide

- Activité biologique,
- présence d 'O₂,
- pH (hors chaulage),
- teneur en eau,
- certain facteurs chimiques (NH₃...)

FACTEURS FAVORABLES :

matière organique
(source de nutriments
et effet protecteur vis-à-vis des autres facteurs)



Type de traitement	Conditions de traitement	Critères d'hygiénisation
Digestion thermophile	10 jours à 55 °C en anaérobiose	Salmonelle < 8 NPP/10 g MS
Stabilisation thermophile	10 jours à 55 °C en aérobiose	
Compostage	15 jours à 60 °C ou 30 jrs à 50 °C	Enterovirus < 3 NPPUC/10 g MS
Chaulage fort	20 jours à pH 12	
Pasteurisation	3 h à 70 °C	Œufs d'helminthes pathogènes viables < 3/10 g MS

Recroissances de pathogènes dans des boues traitées lors du stockage

Bactéries : *Salmonella* spp., certains coliformes

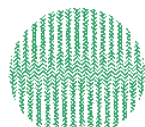
Sources :
1. bactéries viables dans les boues
2. Recontamination

Moyens de prévention :

1. Activité biologique
2. Stabilisation de la matière organique
3. Composés chimiques

antagonismes biologiques
(compétition, prédation, antibiose)
avec les organismes
adaptés à la boue
(protozoaires, bactéries)

rendue moins disponible
pour les bactéries



BOUES CHAULEES

Coliformes fécaux	< 1 log NPP/g MS
Streptocoques fécaux	Non détecté à 1,6 log NPP/g MS

BOUES STOCKEES

Coliformes totaux	40 à 24 000 NPP/l
Streptocoques fécaux	Non détecté à 24 000 NPP/l

BOUES COMPOSTEES

Coliformes fécaux	3,1 log NPP/g MS
Streptocoques fécaux	5,1 log NPP/g MS
<i>Salmonella</i> spp.	15 NPP/g





Quantités de virus entériques

<u>Auteurs</u>	<u>Boues primaires UFP¹⁰/L</u>
Berg et Berman, 1980	3800-116 000
Berman et al, 1981	270-23 200
Brashear et Ward, 1982	10 000- 140 000
Schwartzbrod et Mathieu, 1986	132-9303
Wullenweber et Joret, 1983	645-3200

Quantité de bactéries retrouvées dans les boues

(d'après Feachem et al, 1983, Ademe 1994)

	<u>Boues primaires</u>	<u>Boues digérées</u>
Coliformes totaux	10^6-10^{10} / g MS	abattement 2 log
Coliformes thermotolérants	10^5-10^8 /g MS	abattement 1-2 log
Streptocoques fécaux	10^7-10^9 /g MS	abattement 1-2 log
Clostridium sulfitoréducteurs (spores)	10^6-10^9 / g MS	abattement 1 log
<i>Salmonella sp</i>	$0-10^3$ / g MS	0-1 log

Concentration en oeufs d'helminthes et kystes de parasites dans les boues

(d'après (Gaspard and Schwartzbrod 1997), Thiriart, 1994)

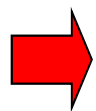
	<u>oeufs d'helminthes / 100 g MS</u>	<u>kystes <i>Giardia</i> / g MS</u>
France	$0-10^3$	10^1-10^5
Europe	$0-10^3$	---
USA	---	10^1-10^4
Pays en voie de développement	10^2-10^5	---



Objectifs filières boues en France :

- stabilisation fermentaire des boues
- réduction des volumes à évacuer

Hygiénisation = conséquence heureuse!



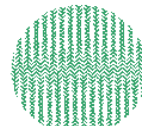
INTEGRER LA NOTION DE FILIERE HYGIENISANTE DANS LA CONCEPTION DES STEP



INRA



L'hygiénisation des boues ne s'impose que dans certains contextes d'utilisation agronomique : **la plupart des boues épandues en France ne sont pas hygiénisées**, la maîtrise du risque sanitaire reposant de façon satisfaisante sur l'application de règles de bonnes pratiques.



Les boues hygiénisées

Niveau requis pour satisfaire à l'exigence d'hygiénisation:

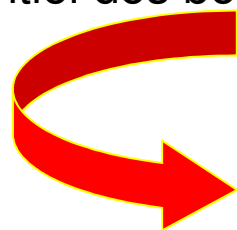
Salmonella <8 NPP/10g MS
Entérovirus <3 NPPUC/10g MS
Œufs d'helminthes pathogènes viables <3/10g MS

Arrêté du 8 janvier 1998

Recherchés lors de la mise en service de l'installation, pas en routine.

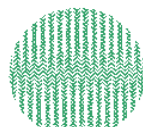
L'hygiénisation des boues est une option possible, pas une obligation.

L'essentiel des boues n'est pas hygiénisé.



La maîtrise du risque se fait par les
'bonnes pratiques d'épandage'

Très faible nombre d'accidents vétérinaires enregistrés (cellule nationale de veille)

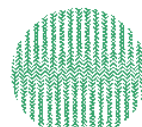


INRA



En routine, seule l'analyse des **coliformes thermotolérants** est demandée tous les 15 jours pendant la période d'épandage, en faisant référence aux valeurs obtenues lors du contrôle de mise en service du dispositif d'hygiénisation.

Distances d'éloignement et période dépanage moins contraignantes pour les boues hygiénisées



INRA



Réglementation sur les compost de boues

Norme NFU 44095

(mai 2002, application rendue obligatoire par l'arrêté ministériel du 18 mars 2004)

Possibilité d'épandre un compost de boues en dehors du plan d'épandage,
et de le mettre sur le marché sans passer par l'homologation

= nouvelle voie de VALORISATION

MAIS:

Contraintes



intérêt agronomique OK?

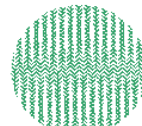
impacts sur l'environnement et sur la santé OK?

HAP, PCB

Escherichia coli, *Clostridium perfringens*,

Entérocoques, *Listeria monocytogenes*,

Salmonelles, œufs d'helminthes viables



INRA



Approche préventive

RESPECT DES REGLES GENERALES D'EPANDAGE

RESPECT DES CONSEILS DONNES AUX AGRICULTEURS

RESPECT DES REGLES D'HYGIENE INDIVIDUELLE



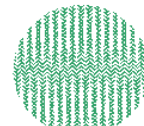
Risques minimisés

(supérieurs pour le bétail au pâturage que pour l'homme)

+ Veille épidémiologique



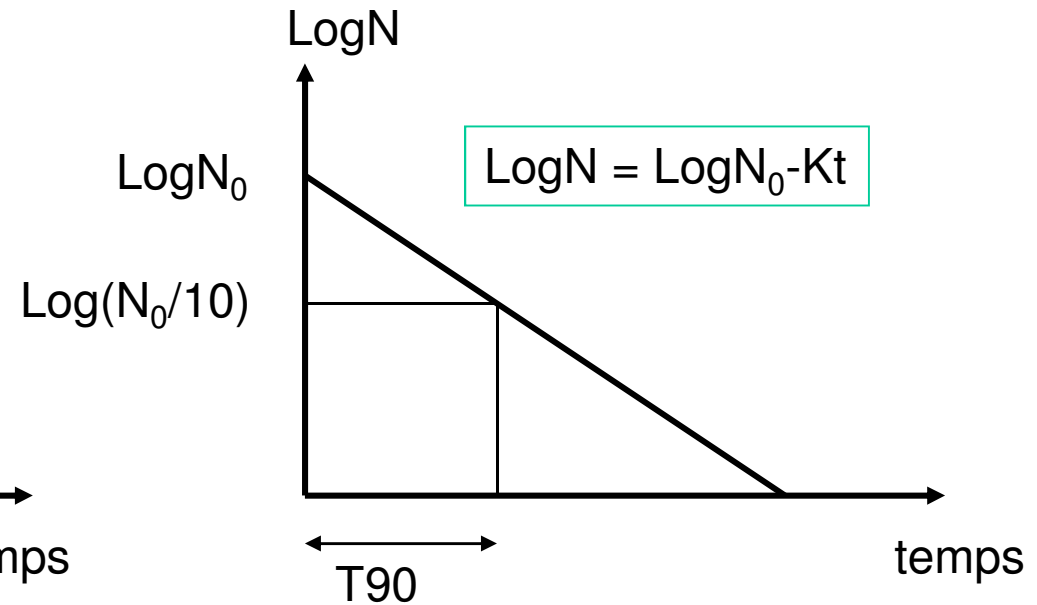
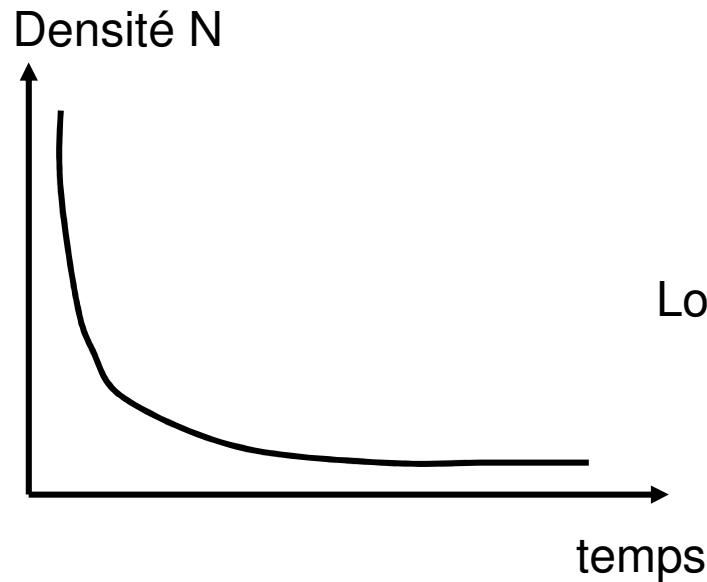
DEVENIR DES ORGANISMES PATHOGENES DANS L'ENVIRONNEMENT



INRA



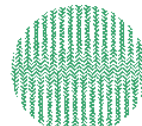
Décroissance des populations



T90, durée de réduction décimale

K, taux de mortalité

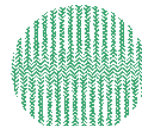
$$T90 = 1/K$$



K est spécifique de l'espèce considérée

T90 : durée nécessaire pour que la densité initiale soit réduite de 90%

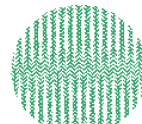
ATTENTION! : ce n'est PAS la durée suffisante pour réduire la population à un niveau sécurisant; ce paramètre permet de comparer les capacités de survie des organismes.



Disparition d'un microorganisme indésirable d'un environnement :

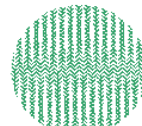
1. Dilution physique
2. Inactivation

Facteurs	La survie diminue ...
<p>température eau organismes vivants pH insolation O₂ nutriments</p>	<p>quand la température augmente quand l'humidité diminue quand l'activité biologique augmente aux pH extrêmes (>12, <3) quand la luminosité augmente variable selon bactérie, négatif sur virus quand la quantité de nutriments diminue</p>
<p>X TEMPS</p>	



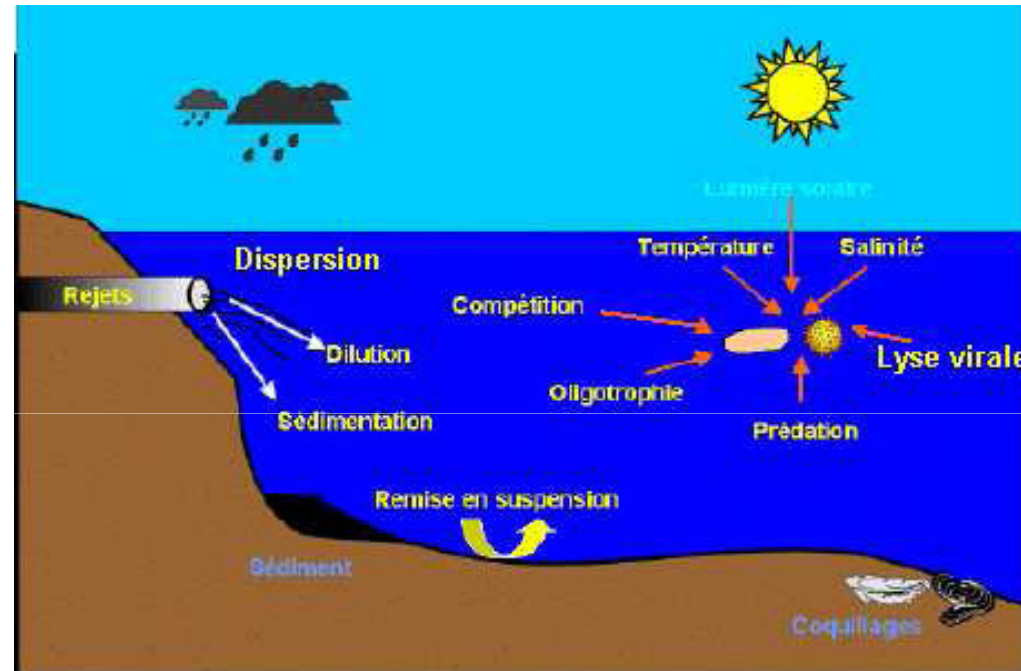
Métabolisme ralenti, survie excellente

- ➔ spores pour les bactéries (*Bacillus anthracis*, *Clostridium* spp...)
- ➔ kyste ou ookyste pour les protozoaires
- ➔ œufs pour les helminthes



**DEVENIR DES PATHOGENES
APRES REJET
DE L'EAU TRAITEE**

Processus impliqués dans la décroissance bactérienne en milieu aquatique



(source : IFREMER)

Processus impliqués dans la décroissance bactérienne en milieu aquatique

PROCESSUS HYDRODYNAMIQUES

Dilution
Advection
Sédimentation
Remise en suspension

PROCESSUS BIOTIQUES

Prédation par les protozoaires
Lyse par les virus bactériophages
Compétition pour les ressources

PROCESSUS PHYSIOLOGIQUES

Salinité
Température
Irradiation solaire
Taux de nutriments



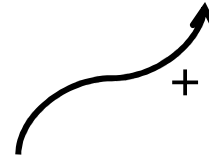
Processus impliqués dans la décroissance bactérienne en milieu aquatique

PROCESSUS BIOTIQUES

Broutage par les protozoaires

(Servais et al., 2009)

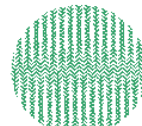
PROCESSUS PHYSIOLOGIQUES



Température

Activité métabolique augmente avec la température;
Augmentation de la capacité de multiplication
Augmentation de la prédation

En période estivale, la prédation est un des facteurs majeurs de l'épuration microbienne



INRA



Processus impliqués dans la décroissance bactérienne en milieu aquatique

PROCESSUS PHYSIOLOGIQUES

Radiations solaires

UV-B (290-320 nm)
Effet bactéricide
Plus important en milieu marin qu'en rivière (salinité)
Fonction de la turbidité et de la profondeur

Salinité

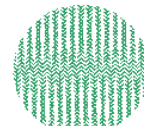
Choc osmotique lors du rejet en mer (VBNC)

Eutrophisation

Développement massif de plancton et d'algues

Protection/UV

Broutage planctonique
Antiseptiques algaux



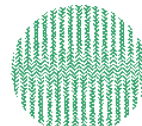
Réservoir de bactéries fécales

- Remise en suspension

(navigation, activités récréatives, vents, augmentation du débit, houle, effet des marées...)

-Survie meilleure dans les sédiments que dans la colonne d'eau

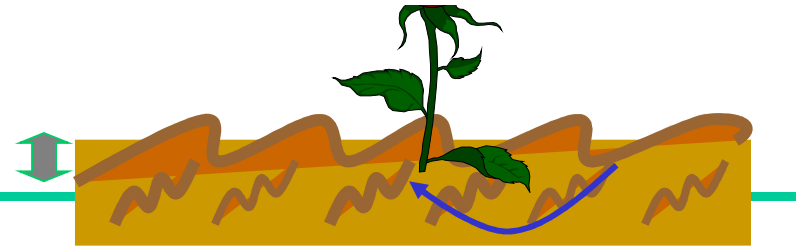
(Garcia-Armisen, 2006)



INRA



DEVENIR DES PATHOGENES APRES EPANDAGE DES BOUES



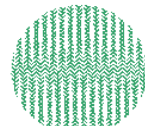
Organismes déposés à la surface du sol et des végétaux

‘ Bruit de fond ’ de contamination du aux déjections d ’animaux sauvages

Décroissance des populations fonction :

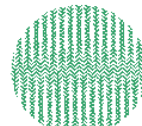
- des capacités propres des organismes,
- de variables extrinsèques
(température, humidité, insolation...),
- des propriétés biologiques et chimiques du sol
(pH, teneur en Ca...),
- de la hauteur et de l ’état du végétal (fissures protectrices).

L ’enfouissement favorise la survie mais diminue les risques d ’exposition.



La survie des pathogènes est **plus courte** :

- sur les végétaux que dans ou sur le sol,
- en été qu'en hiver,
- dans une boue en surface que dans une boue enfouie,
- sur un sol desséchant (sableux) que sur un sol humide.



INRA



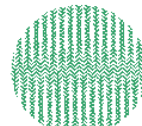
Les boues d'épuration ne constituent pas un milieu favorable à la survie des micro-organismes pathogènes.

L'épandage accélère leur destruction

effets du climat (température, rayonnement solaire, humidité)
effets du sol (compétition avec d'autres micro-organismes, conditions physico-chimiques).

L'enfouissement des boues peut ralentir la disparition ou la perte de viabilité

Les vers parasites, peuvent prendre des formes de résistance (œufs) qui leur donnent une bonne capacité de survie.



Mal adaptés au milieu extérieur, les micro-organismes pathogènes disparaissent rapidement.

Leur survie peut varier de quelques jours à quelques semaines, parfois quelques mois



LES BIOAEROSOLS

AUTRE VECTEUR DE DISSEMINATION

Cycles de contamination possibles

Eaux résiduaires urbaines
Effluents industriels
Eaux de pluie
Hôpitaux



STEP
AIR

Eaux
traitées



RIVIERES,
SEDIMENTS

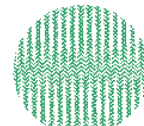
AIR

HOMME,
PLANTES,
ANIMAUX

boues



SOL, EAUX

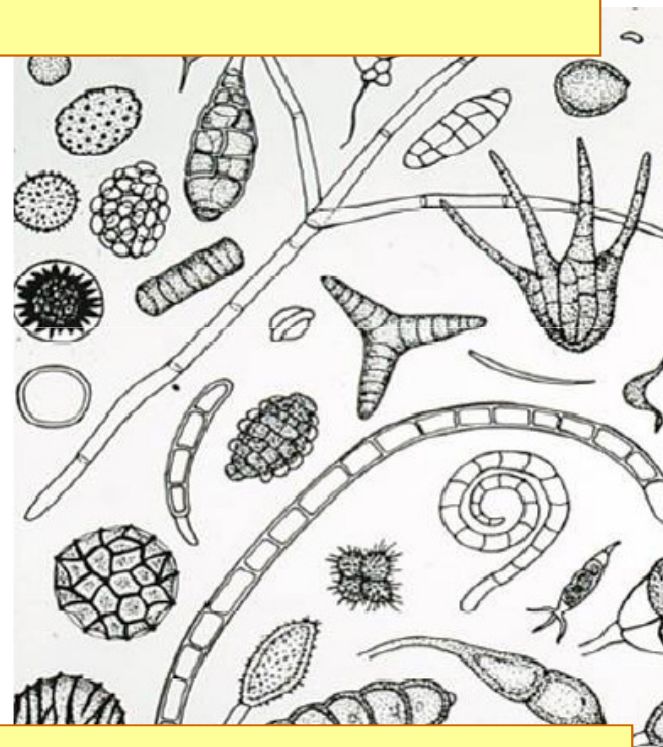
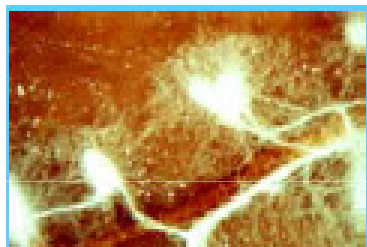


INRA



Les bioaérosols

Matériel particulaire ayant une origine microbienne, végétale ou animale, et incluant des champignons, des bactéries, des virus, des spores, des pollens etc...



Corrélation entre niveaux de particules dans les ambiances de travail et charge microbiologique des prélèvements d'air



Production de bioaérosols lors de la manipulation, du traitement et du stockage des déchets

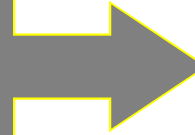
- stations d'épuration,
- centres d'enfouissement,
 - compostage,
 - épandage,
- irrigation avec des eaux usées,
- digestion anaérobie (biogaz),
- élevage...



Dispersion aérienne lors de l'épandage



Boues liquides



AEROSOLS

Boues sèches



POUSSIÈRES

Virus et bactéries



Procédé de compostage



manipulation des entrants
manipulation du compost
retournement
criblage...

Bioaérosols

bactéries, champignons, mycotoxines, enzymes, glucanes...
Présence de pathogènes et d'allergisants

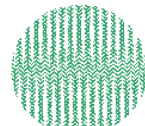
Relation entre exposition des travailleurs aux aérosols et maladies infectieuses
ou problèmes respiratoires

La plupart des études considèrent *Aspergillus fumigatus* et les actinomycètes

Zone d'influence du site mal définie

Epidémiologie des populations riveraines des sites manquante

La plupart des études utilisent des techniques de culture



1. Pathogènes d 'origine fécale
présents dans les boues

2. Pathogènes ou allergisants
se développant pendant le compostage
ou le stockage
(actinomycètes thermophiles, champignons)

3. Toxines et allergènes libérés
par les bactéries et les champignons

← *Aspergillus fumigatus*

← Endotoxines,
mycotoxines,
glucanes



Risque microbiologique aéroporté du compostage

✦ Peu d'études, principalement sur les **travailleurs**
plaintes :

- troubles respiratoires de la sphère ORL
- irritations oculaires
- troubles digestifs, nausées, vomissements, diarrhées,
- maux de tête
- réactions allergiques/inflammatoires



Bioaérosol

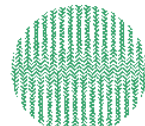
?



**Broncho alvéolites allergiques extrinsèques
aspergillose broncho-pulmonaires
aspergillose pulmonaires invasives
pneumopathies d'hypersensibilité**

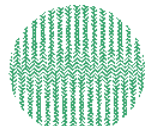
✦ cas isolés chez des **particuliers** :
contaminations à *Aspergillus* et à des thermoactinomycètes

✦ risques pour les **populations voisines** des sites pas/peu évalué



**ETUDE DES PATHOGENES
DANS L'ENVIRONNEMENT :
NOUVELLES APPROCHES**

ETAT VBNC
APPORTS DES OUTILS MOLECULAIRES



INRA



Les techniques de mesure des pathogènes

Bactéries et particules virales mises sur milieu de culture

mesure = capacité de multiplication

bactéries :

NPP : nombre le plus probable

UFC : unités formant colonies

virus :

UCP : unités cytopathiques

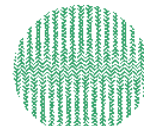
NPPUC : nombre le plus probable d'unité cytopathiques

UFP : unité formant plaque

Parasites : dénombrés individuellement

(observation microscopique directe)

l'unité est le nombre d'œufs ou le nombre de kystes
viabilité inconnue



Habitat	Cultivabilité (%)
Eau de mer	0,001-0,1
Eau douce	0,25
Lac mésotrophique	0,1-1
Eaux d'estuaires non pollués	0,1-1
Boues activées	1-15
Sédiments	0,25
Sol	0,3

Amann et al., 1995

% UFC/nombre total cellules en microscopie



Environnement	Organisme (milieu de culture)	Pourcentage de cultivabilité*(%)
Air intérieur	Bactéries (Tryptic Soy Agar) et champignons (Malt Extract Agar)	0,001-30
Elevage porcin	Bactéries et spores d'actinomycètes (nutrient agar)	1-10
Agriculture	Bactéries (Luria Bertani agar)	0,5-4
Site d'irrigation en eaux usées	Bactéries (R2A Agar)	0,1-1
Air urbain extérieur	Bactéries (Tryptic Soy Agar)	0.02

*comparaison des dénombrements sur milieu non sélectif à la concentration totale déterminée par microscopie

(Peccia et Hernandez, 2006)



Devenir des pathogènes dans l'environnement

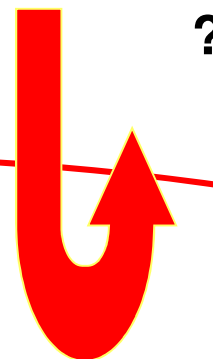
fonction du type de sol, de l'ensoleillement, des conditions météo, de la teneur en matière organique, de l'humidité etc...

**Connaissances basées
sur les mesures de
bactéries cultivées**

Situation de stress



Viable mais non cultivables



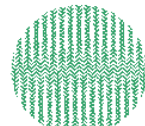
Intérêt du moléculaire!!



Sous-population de cellules ne se multipliant plus sur milieu de culture mais physiquement active pour plusieurs fonctions mesurables :

- élongation cellulaire,
- activité de la chaîne respiratoire,
- incorporation de substrats radio-marqués...

Mécanisme de survie adopté par les bactéries face à des conditions environnementales défavorables (Besnard et al., 2000; Barer and Harwood, 1999).



VBNC *E.coli* dans les rivières et les eaux usées (Garcia-Armisen et Servais, 2004)

VBNC *Salmonella typhimurium* dans le sol (Marsh et al., 1998)

Non étudié pour les pathogènes dans les boues

VBNC en laboratoire + autres environnements (matrices alimentaires...):

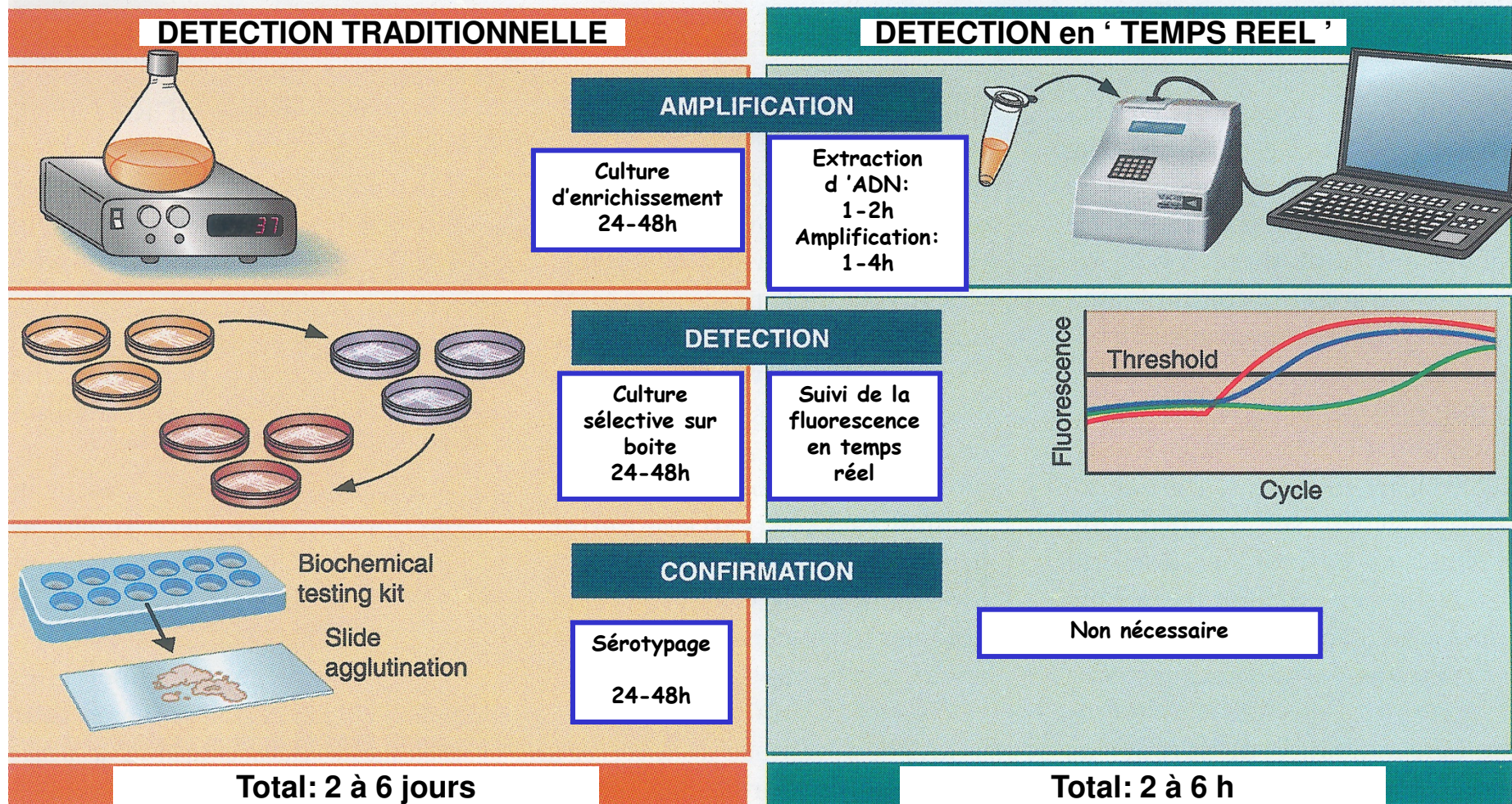
L. monocytogenes, E. coli, C. jejuni, L. pneumophila, salmonelles,

Shigella dysenteriae, Citrobacter freundii, Vibrio cholerae, B. cereus...

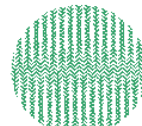
(Rowan, 2004)



Les nouvelles techniques de détection

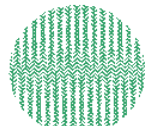


D'après Jaykus (2003) ASM news, Vol69, n°7, pp341-347



MICROBIAL SOURCE TRACKING

Vers de nouveaux indicateurs de contamination...



INRA



Contamination des eaux



Déjections animales



Effluents de stations d'épuration



Rejets non raccordés



Épandage de boues, lisier, fumier...



Pollution chimique et microbiologique des eaux de surface



Zones de baignade



Zones conchylicoles



Contamination des eaux

☞ méthodes normalisées de détection de pollution fécale

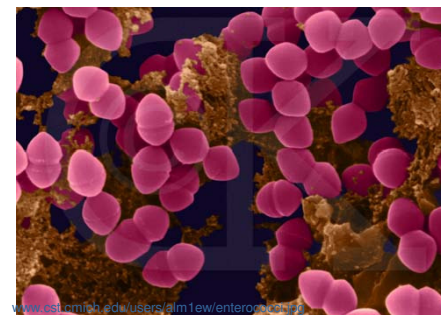
2 indicateurs de contamination fécale



E. coli

☺ origine fécale

☹ impossible de différencier
humain/ animal



Entérocoques intestinaux

Microbial source tracking

Antibiotic-resistant enterococci phenotypes

Bacteriophages of *Bacteroides fragilis*

F-RNA bacteriophage subgroups

Mitochondrial DNA

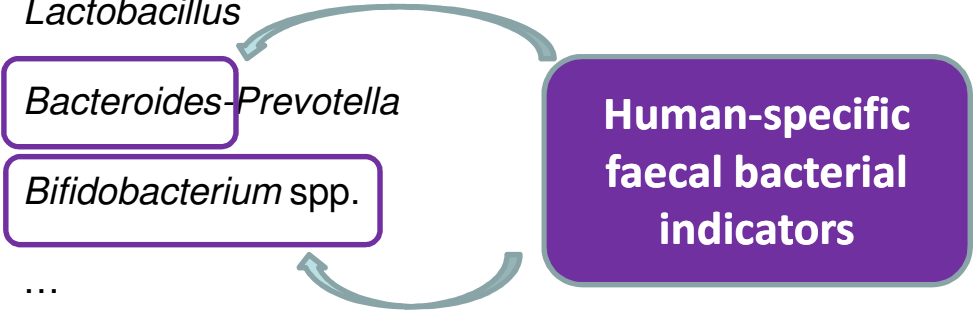
Rhodococcus coprophilus

Lactobacillus

Bacteroides-Prevotella

Bifidobacterium spp.

...



**Human-specific
faecal bacterial
indicators**

Bacteroides

- ✓ Host-specificity
- ✓ Dominant in faeces from warm-blooded animals
- ✓ Short survival rates outside the hosts
- ✓ Minimal potential for proliferation in the environment

PCR SYSTEMS

HuBacF and HuBacR
 BacHumF and BacHumR
 BacHF and BacHR
 HF183F and HF264R
 HF134F and HF654R
 Human-Bac1
 YHF67F and YHF210R

AUTHORS

Layton *et al.* (2006)
 Kildare *et al.* (2007)
 Reischer *et al.* (2007)
 Seurinck *et al.* (2005)
 Bernhard & Field (2000)
 Okabe *et al.* (2007)
 Yong *et al.* (2010)

France

(Gourmelon *et al.*, 2007)

United States

(Boehm *et al.*, 2003; Field *et al.*, 2002)

New Zealand

(Gilpin *et al.*, 2003)

...

Bifidobacterium

- ✓ Host-specificity
- ✓ Short survival rates outside the hosts
- ✓ Minimal potential for proliferation in the environment

Human-specific indicators :
(Bonjoch et al., 2004; Blanch et al., 2006,
King et al., 2007,
Lynch et al., 2002; Dorai-Raj et al., 2009)

B. adolescentis
B. dentium
B. catenulatum

United States

(King et al., 2007; Sinigalliano et al., 2007;
Morrison et al., 2008)

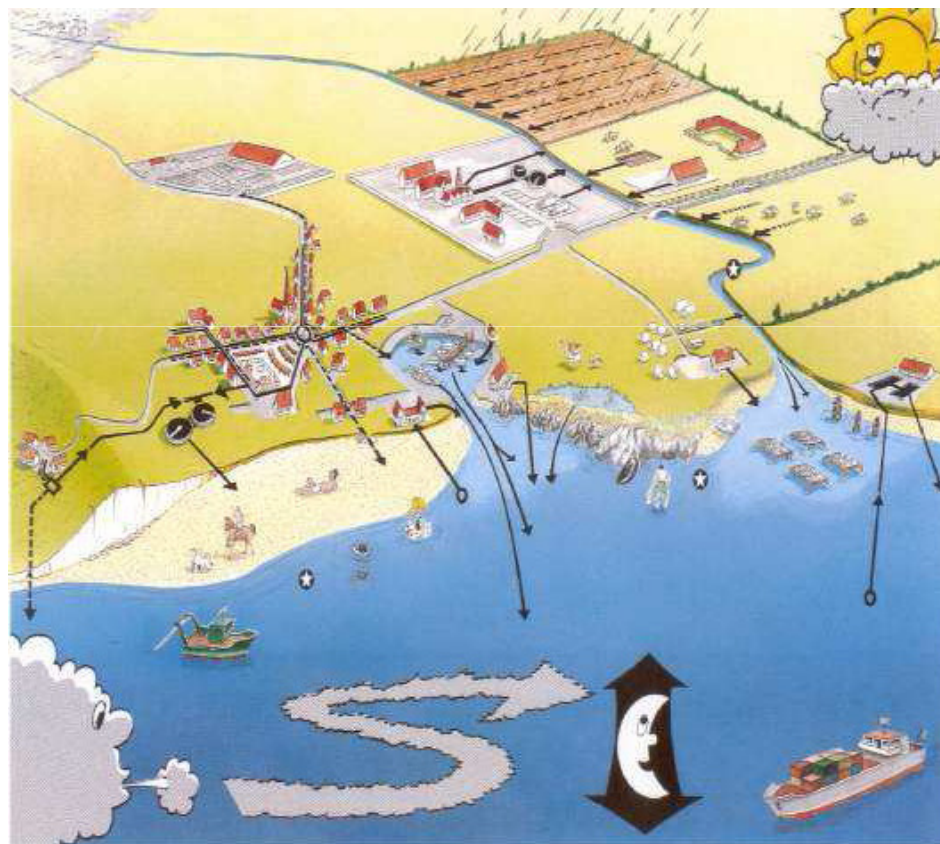


Marqueurs microbiologiques et chimiques de l'origine de la contamination fécale en milieu aquatique



Identification et hiérarchisation des sources de pollution
Amélioration de la qualité des eaux

dynamique



Source : J.Duchemin – AESN

