

CHAPITRE 2 : MICROBIOLOGIE DES EAUX

1. Caractéristiques de l'environnement aquatique (marin et dul  aquotique)

Un facteur important dans les milieux aquatiques est le mouvement des matériaux, qu'ils soient gazeux, solides ou dissous. Le mélange et le mouvement des éléments nutritifs, de l'oxygène et des déchets qui se produisent dans les milieux d'eaux douces et marines, sont des facteurs contrôlant la communauté microbienne. Les gaz et les déchets solubles produits par les microorganismes des profondeurs (marines et lacustres) stimulent l'activité d'autres groupes microbiens. Des phénomènes similaires peuvent se produire à plus petite échelle : biofilms et tapis microbiens, où il se forme des gradients sur une échelle de quelques micromètres. Les milieux aquatiques présentent des surfaces et des volumes très divers, pouvant aller de l'alcalinité à l'acidité extrême. Les températures auxquelles les microorganismes se développent, s'échelonnent de -5      -15  C vers les profondeurs et jusqu'à 113  c dans les régions géothermiques (Prescott et al., 1995).

2. Microbiologie des eaux

2.1. Les microorganismes des eaux dul  aquotiques :

Les eaux froides et limpides d'origine souterraine peuvent contenir à peine quelques centaines de bactéries par millilitre, tandis que les eaux de surface (rivier  , lac...) chargées de sédiments et de matière organique peuvent en posséder plusieurs milliers.

Tableau 1 : microorganismes des eaux de surfaces

Microorganismes		Genres
Bactéries	Photolithotrophes	<i>Chlorobium, Chromobacterium</i>
	Chimiolithotrophes	Bactéries fixatrices d'azote : <i>Azotobacter, Aerobacter</i> Bactéries nitrifiantes : <i>Nitrozomonas, Nitrobacter</i> Bactéries méthanogènes : <i>Methanobacterium, Methanococcus</i>
	chimioorganotrophes	<i>Flavobacterium, Sarcina, Serratia, Pseudomonas, Micrococcus, Bacillus, Clostridium, Nocardia, Escherichia coli, Proteus vulgaris, Streptococcus faecalis, Enterobacterb aerogenes, Salmonella typhi, Vibrio...etc</i>
Algues		<i>Euglena, Chromulina, Navicula, Nautococcus...etc</i>
Myc��tes		<i>Cladosporium, levure...etc</i>
Protozoaires		<i>Vorticella, Stentor, Paramecium</i>

2.2. Les microorganismes des eaux marines :

Le phytoplancton : les diatomées, Xantophyc  es, dinoflagell  es, flagellés.

Le zooplancton : dominance des protozoaires : les foraminifères, les radiolaires et les bactéries les plus fréquentes sont des Gram positives (ex : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Cytophaga*, *Flavobacterium*) et quelques Gram négatif (ex : *Vibrio*).

3. Traitement de l'eau potable

Lorsque l'eau est obtenue à partir des réservoirs intacts alimentés par un flux montagneux clairs ou de puits profonds, elle nécessite un minimum de traitement pour la rendre potable. De nombreuses villes, toutefois, obtiennent leur eau de sources polluées, comme les rivières qui ont reçu déchets municipaux et industriels en amont. Le traitement de l'eau n'est pas destiné à produire de l'eau stérile qui est exempt de microbes pathogènes (Tortora et al., 2010).

La purification de l'eau peut comprendre une variété d'étapes, selon le type d'impuretés dans la source d'eau brute. Par exemple, si l'eau brute contient de grandes quantités de fer et de manganèse, qui précipitera souvent lorsque l'eau est exposée à l'air, il peut être nécessaire d'aérer l'eau et d'employer d'autres méthodes pour éliminer ces ions au début de la séquence de purification. Habituellement, l'eau municipale est purifiée par un procédé qui consiste en au moins trois ou quatre étapes.

Sédimentation : Si l'eau brute contient une grande quantité de matières en suspension, elle est souvent d'abord dirigée vers un bassin de sédimentation et est maintenue de façon que le sable et d'autres particules très grands puissent s'y déposer (Prescott et al., 2002).

Floculation : L'eau partiellement clarifiée est ensuite mélangée avec des produits chimiques tels que l'alun (sulfate de potassium aluminium) et la chaux, et est déplacée vers un bassin de décantation où le plus de matière précipite. Cette procédure est appelée coagulation ou floculation, qui consiste à piéger la matière colloïdale et l'entraîner vers le bas. Cette procédure supprime les micro-organismes (bactéries et virus), la matière organique, les contaminants toxiques, et les particules fines en suspension (matières colloïdales telles que l'argile qui pourrait rester en suspension indéfiniment ; Prescott et al., 2002 ; Tortora et al., 2010).

Filtration : Après floculation, l'eau est en outre purifiée par passage à travers une unité de filtration. Les filtres à sable, qui dépendent du piégeage physique de particules fines et de floes sont habituellement utilisés à cette fin. Cette filtration élimine jusqu'à 99 % des bactéries restantes (Prescott et al., 2010). Certains protozoaires les kystes et les oocystes sont éliminés de l'eau seulement par cette filtration. Les micro-organismes sont piégés pour la plupart par adsorption à la

surface des particules de sable. Ces systèmes peuvent être complétés avec des filtres de charbon activé. En effet, le charbon supprime non seulement les fines particules, mais aussi les polluants chimiques organiques dissous. Ce système de traitement pourra supprimer les virus (qui sont plus difficiles à éliminer que les bactéries et les protozoaires) avec un rendement d'environ 99,5 %. La filtration sur membrane à basse pression sont aussi utilisés, ont des ouvertures de pores aussi petits que 0,2µm (Tortora et al., 2010).

Désinfection : Après filtration, l'eau est traitée avec un désinfectant. Cette étape implique généralement la chloration, ozonation, cette dernière est de plus en plus populaire. Lorsque la chloration est utilisée, et étant donné que la matière organique neutralise le chlore, on doit accorder une attention constante à maintenir des niveaux efficaces de chlore. La dose de chlore doit être suffisamment grande pour laisser le chlore libre résiduel à une concentration de 0,2 à 2,0 mg / litre. Cependant la création de sous-produits de désinfection (SPD) est préoccupante, tels que les trihalométhanes (THM) qui se forment lorsque le chlore réagit avec la matière organique. Certains de ces composés peuvent être cancérigènes. Le traitement à l'ozone est apprécié, car il ne laisse pas de goût ou d'odeur. Parce qu'il a peu d'effet résiduel, l'ozone est habituellement utilisé comme un traitement de désinfection primaire et est suivie par la chloration. L'utilisation d'une lumière UV est également un complément ou alternative à la désinfection chimique (Prescott et al., 2002, Tortora et al., 2010).

4. Analyse qualitative de l'eau

Historiquement, la plupart de nos préoccupations sur la pureté de l'eau ont été associées à la transmission des maladies. Par conséquent, des tests ont été mis au point pour déterminer la sécurité sanitaire de l'eau (Tortora et al., 2010).

La surveillance sanitaire et la détection des micro-organismes pathogènes sont une partie importante de la microbiologie. Un large éventail de maladies virales, bactériennes, et à protozoaires résultent de la contamination de l'eau par des matières fécales humaines. Bien que bon nombre de ces agents pathogènes puissent directement être détectés, les microbiologistes environnementaux utilisent des organismes spécifiques comme indicateurs de contamination de l'eau par ces agents pathogènes (Prescott et al., 2002).

Les coliformes, dont *Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes* sont des membres de la famille des entérobactéries ; représentent environ 10% des micro-organismes intestinaux chez l'homme et les animaux. Ces bactéries sont largement utilisées comme micro-organismes indicateur, perdant leur viabilité en eau douce à un rythme plus lent que la plupart des principaux agents pathogènes intestinaux. Lorsque de telles bactéries entériques indicatrices ne sont pas détectables dans un volume spécifique (100 ml) d'eau, l'eau est considérée comme étant potable [du latin *potabilis* : bonne à boire], à la consommation humaine (Prescott et al., 2002, Tortora et al., 2010).

4.1. Test de fermentation Les coliformes sont définis comme des bâtonnets gram-négatifs anaérobies facultatifs non-sporulant, **fermentent le lactose** avec formation de gaz dans les 48 heures à 35 ° C. Le test original de coliformes qui a été utilisé pour répondre à cette définition implique un test **présomptif**, un **confirmatif**, et un dernier **démonstratif (fig. 8)**. L'étape présomptive est réalisée au moyen de tubes inoculés avec trois volumes différents d'échantillons pour donner une estimation du nombre le plus probable (NPP) de coliformes dans l'eau. Le processus complet, nécessite au moins 4 jours pour les transferts et les incubations. Malheureusement, les coliformes comprennent un large éventail de bactéries dont la source primaire ne peut pas être le tractus intestinal. Pour faire face à cette difficulté, des tests ont été développés pour mettre en évidence la présence de coliformes fécaux. Ce

sont des coliformes provenant de l'intestin des animaux à sang chaud, qui peuvent se développer à une température plus restrictive de 44,5 ° C.

Pour tester la présence de coliformes et coliformes fécaux, une série de tests simples spécifiques et plus efficace ont été développés pour récupérer les coliformes stressés. Il s'agit notamment de la technique de la membrane de filtration, le test de la présence - absence (PA) des coliformes et le test **Colilert** de détection des coliformes et d'*E. coli* par un substrat défini (Prescott et al., 2002).

4.2. La technique de filtration sur membrane. Le procédé de filtration sur membrane est une méthode plus directe pour la détermination de la présence et le dénombrement de coliformes, pour évaluer les caractéristiques microbiologiques de l'eau. L'échantillon d'eau est passé à travers une membrane filtrante de porosité déterminée (0.45µm). Le filtre portant à sa surface les bactéries piégées est transféré sur un support solide de milieu adéquat. L'utilisation du milieu approprié permet la détection rapide des coliformes totaux (Endo), les coliformes fécaux (milieu de sel biliaire (m-FC agar) contenant un colorant aniline bleue), et des streptocoques fécaux (milieu contenant de l'azoture (KF agar) avec TTC (chlorure de triphenyltétrazolium) par leurs colonies caractéristiques. Cette méthode est adaptée pour les eaux à faible turbidité (celle-ci risque d'obstruer le filtre), et contenant relativement peu de bactéries (les non coliformes) qui masqueraient les résultats (Prescott et al., 2002, Tortora et al., 2010).

4.3. Tests P/A et tests ONPG et MUG des tests Plus simplifiés pour détecter les coliformes et des coliformes fécaux sont actuellement disponibles. Le test de présence-absence (test PA) peut être utilisé pour les coliformes, dans lequel un échantillon d'eau (100 ml) est incubé dans un flacon de culture unique avec un bouillon triple concentré de bouillon contenant du lactose, du bouillon tryptose lauryl, et du bromocrésol pourpre comme indicateur. Le test PA est basé sur l'hypothèse d'une absence totale des coliformes dans 100 ml d'eau potable. Un test positif se traduit par la production d'acide (une couleur jaune) et constitue un test présumé positif nécessitant confirmation (Prescott et al., 2002).

Une méthode plus récente et plus commode de détection des coliformes, spécifiquement le coliforme fécal *E. coli* a été mise au point par le test de substrat défini **Colilert**. Un échantillon d'eau de 100 ml est ajouté à un milieu spécifique contenant l'o-nitrophényl-β-D-galactopyranoside (ONPG) et de 4-méthylumbelliferyl-β-D-glucuronide (MUG) comme seuls nutriments. Les coliformes produisent la β-galactosidase, qui agit sur l'ONPG qui libère le o-nitrophénol et donne une couleur jaune dans les 24 heures à 35 ° C, indiquant leur présence dans l'échantillon. *E. coli* est l'unique coliforme produisant presque toujours la β-glucuronidase. Pour le vérifier, le milieu est observé sous UV. Lorsque *E. coli* est présente, on observe un produit fluorescent. Si le test est négatif quant à la présence de coliformes, l'eau est considérée potable pour la consommation humaine.

Ces tests simples, peuvent détecter la présence ou l'absence de coliformes ou d'*E.coli* et peuvent être combinés avec la méthode des tubes multiples pour les énumérer. Il peut également être appliqué à des milieux solides, tels que le procédé de filtration sur membrane, où les colonies apparaissent fluorescentes sous la lumière UV (Prescott et al., 2002, Tortora et al., 2010).

D'autres organismes indicateurs. Les entérocoques fécaux sont de plus en plus utilisés comme un indicateur de contamination fécale dans l'eau saumâtre et marine. Dans l'eau salée ces bactéries meurent à un rythme plus lent que les coliformes fécaux, fournissant un indicateur plus fiable d'une pollution récente éventuelle (Prescott et al., 2010).

Un problème encore plus grave est que certains agents pathogènes, en particulier les virus et les oocystes de protozoaires, sont plus résistants que les coliformes à la désinfection chimique. Grâce à l'utilisation de méthodes sophistiquées de détection des virus, il a démontré que les échantillons d'eau désinfectée chimiquement exempts de coliformes sont encore souvent contaminés par des virus entériques. Les kystes de *Giardia lamblia* et des oocystes de *Cryptosporidium* sont si résistants à la chloration que leur élimination complète par cette méthode est probablement impossible, les méthodes mécaniques telles que la filtration sont nécessaires. En règle générale, les virus sont plus résistants à la chloration qu'*E.coli*, et les kystes de *Cryptosporidium* et *Giardia* sont 100 fois plus résistants que les virus ((Tortora et al., 2010).

4.4. Techniques moléculaires les techniques d'amplification moléculaire par PCR en temps réel sont aussi utilisées pour mettre en évidence la contamination de l'eau par les virus et les coliformes (Weinert et al., 2010).

5. Traitement biologique de l'eau

L'autoépuration aérobie qui se produit lorsque des matières organiques sont apportées aux lacs et aux rivières peut être reproduites dans de grands réservoirs. Ceci implique la culture de micro-organismes qui se développent normalement dans ces environnements dulçaquicoles. En effet, cette élimination des éléments nutritifs de l'eau usée diminue la dégradation des ressources d'eau et détruit les agents pathogènes potentiels de l'homme.

Le traitement des eaux usées implique trois étapes : un traitement primaire, un secondaire et un tertiaire.

5.1. Le traitement primaire ou physique élimine 20 à 30% de la DBO présente sous forme particulaire par tamisage, par précipitation des petites particules et par décantation en bassins ou réservoirs (matière granuleuse semblable). On obtient ainsi une matière solide ou **Boue**. De 40 à 60% de solides en suspension sont éliminés des eaux usées par cette décantation. L'activité biologique n'est pas particulièrement importante dans le traitement primaire, bien que certaines digestions des boues et des matières organiques dissoutes puissent se produire pendant des périodes relativement longues (Prescott et al., 1995 ; Tortora et al., 2010).

5.2. Le traitement secondaire ou biologique ou élimination des matières organiques dissoutes, on assiste à l'élimination de nombreuses bactéries pathogènes et la dégradation de 90 à 95% de la DBO (Prescott et al., 1995). Le traitement secondaire des eaux usées, qui est majoritairement biologique.

Parmi les traitements biologiques, on distingue les procédés biologiques extensifs et intensifs.

a) *Les procédés biologiques extensifs*

Les marais artificiels ou lagunes utilisent les plantes aquatiques (flottantes, émergentes ou submergées) et les microorganismes qui y sont associés pour le traitement des déchets liquides d'ordures ménagères, des effluents industriels ou des eaux de drainage des mines.

Le **lagunage** utilise la capacité épuratrice de plans d'eau peu profonds. Les eaux usées sont envoyées dans une série de bassins. L'oxygène est apporté par les échanges avec l'atmosphère. La pollution organique se dégrade sous l'action des bactéries présentes dans le plan d'eau. Ce mode d'épuration permet d'éliminer 80 à 90 % de la DBO, 20 à 30 % de l'azote et contribue à une réduction très importante des germes. Il a cependant l'inconvénient d'utiliser des surfaces importantes.

b) Les procédés biologiques intensifs

Ils regroupent toute une série de techniques ayant en commun le recours à des cultures bactériennes qui « consomment » les matières polluantes. Il existe deux grandes catégories de procédés biologiques artificiels.

Les installations à « boues activées » : il s'agit d'un système d'épuration aérobie, c'est-à-dire nécessitant un apport d'oxygène. La culture bactérienne est maintenue dans un bassin aéré et brassé. Les matières organiques contenues dans l'eau se transforment en carbone (sous la forme de dioxyde de carbone - CO₂) sous l'action des bactéries. Les résidus ainsi formés, contenant ce stock de bactéries, sont appelés « boues ». Après un temps de séjour dans un bassin d'aération, l'effluent est renvoyé dans un **clarificateur**, appelé aussi décanteur secondaire. Ensuite, les boues sont soit envoyées dans une unité de traitement spécifique, en vue de leur épandage agricole ou de leur élimination, soit réinjectées pour partie dans le bassin d'aération. On qualifie cette opération de « recirculation des boues ».

Les traitements par boues activées éliminent de 85 à 95 % de la DBO₅, selon les installations. C'est le traitement biologique le plus simple et le plus fréquemment utilisé actuellement en France.

Les installations à « cultures fixes ». La technique des lits bactériens consiste à faire ruisseler les eaux à traiter sur un support solide où se développe une culture de microorganismes épurateurs, le « film biologique » ou « biofilm ». Le rendement maximum de cette technique est de 80 % d'élimination de la DBO. Ces procédés équipent moins de 10 % du parc français des stations d'épuration. Ils sont en général réservés aux installations d'une taille inférieure à 2 000 équivalents-habitants.

La **biofiltration** utilise une culture bactérienne fixée sur un support granulaire. Le milieu granulaire sert à la fois de filtre et de support aux cultures bactériennes. Cette installation offre donc la possibilité de réaliser conjointement la dégradation des matières polluantes et la clarification des eaux usées. Quel qu'il soit, le matériau retenu doit se caractériser par son action filtrante et permettre une fixation maximale des cultures biologiques. Un système d'aération apporte l'oxygène nécessaire à l'intérieur du filtre. Cette technique élimine environ 90 % de la DBO et peut également éliminer l'azote.

On produit moins de boue dans une station d'épuration, en employant la **méthode d'aération prolongée**. Les microorganismes se multiplient en dégradant la matière organique dissoute et

la biomasse microbienne nouvellement formée est finalement consommée pour satisfaire les besoins en énergie de leur conservation. Ceci nécessite des bassins d'aération de très grande taille et des temps d'aération prolongés. En outre, en raison de l'auto-utilisation biologique de la biomasse, il y a souvent une libération, dans l'eau de substances inorganiques présentes à l'origine dans les microorganismes.

Tous les processus aérobies produisent une masse microbienne en excès ou boue de retenue, contenant de nombreux dérivés organiques réfractaires. Les boues provenant d'un traitement aérobique sont souvent retraitées, en même temps que les matières décantées lors du traitement primaire par une **digestion anaérobie**. Les digesteurs anaérobies sont de grands réservoirs conçus pour fonctionner en anaérobiose avec un apport continu de boues non traitées et une élimination des résidus stabilisés. Le méthane est éliminé par un événement et est souvent brûlé pour produire de la chaleur ou de l'électricité. Ce processus comporte trois étapes (1) la fermentation des constituants de la boue pour former des acides organiques dont l'acétate (2) la production de substrats méthanogènes : acétate, CO₂, hydrogène ; et finalement par « déshabillage » une volatilisation à pH élevé, sous forme de NH₃. Cet ammoniac est chloré en dichloramine, laquelle est ensuite converti en azote moléculaire.

5.3. Le traitement tertiaire : les traitements complémentaires

Il est soit physique et/ou biologique permet d'éliminer les substances chimiques, l'azote et le phosphore inorganique mais aussi d'autres composés récalcitrants (Prescott et al., 2002), qui n'ont pas été éliminés par les traitements primaires et secondaires.

Le traitement tertiaire est conçu pour éliminer pratiquement toute la DBO, l'azote et le phosphore. Le traitement tertiaire est moins dépendant du traitement biologique mais utilise plutôt les traitements physiques et chimiques. Le phosphore est précipité par combinaison avec des produits chimiques tels que la chaux, l'alun et le chlorure ferrique. Les filtres de sables fins et le charbon activé suppriment les petites particules et les substances chimiques dissoutes. L'azote est converti en ammoniac et est ensuite libéré dans l'air par l'intermédiaire de tours de stripping. Certains systèmes encouragent la dénitrification par les bactéries pour former de l'azote gazeux volatil (Tortora et al., 2003 et 2010). Dans ce cadre le processus de traitement anaérobie et aérobique (anaérobie-anoxique-oxydant : AAO) sont souvent utilisés ensemble dans une séquence soigneusement conçue. La séquence complète comprend trois étapes: (1) traitement anaérobie des déchets(A), (2) le traitement de ce produit avec du nitrate ajoutée dans des conditions anoxiques pour promouvoir la dénitrification(A), et (3) avant rejet dans l'environnement le "polissage" de l'effluent dans des conditions aérobies (oxygène:O ; Prescott et al., 2002). Enfin, l'eau purifiée est chlorée. L'eau fournie est potable, mais ce traitement est relativement coûteux. (Tortora et al., 2003 et 2010).