

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

Université de Saida Dr Tahar Moulay

Faculté des Sciences

Département de biologie



Polycopié

Destiné aux étudiants de Licence Microbiologie.

Microbiologie de l'environnement

Elaboré par : Dr. BELLIL Yahia.

Préface

Ce polycopié est un traité de Microbiologie de l'environnement dont l'objet est l'étude des milieux de l'environnement et l'étude de la flore microbienne diversifiée dans les milieux naturels. Le «compartiment microbien», qui est une composante des écosystèmes, regroupe les procaryotes et eucaryotes unicellulaires ; les virus sont également objet d'étude dans la mesure où ils sont impliqués dans des problématiques écologiques et environnementales. Les thématiques développées ont pour but la connaissance : I de la diversité des micro-organismes selon leur niche écologique ; II de leur adaptation aux conditions environnementales ; III de leurs interactions biotiques et abiotiques ; IV de leur activité au sein des écosystèmes, en particulier leur intervention dans les cycles géochimiques. Le support est structuré en cinq chapitres : Dans le 1^{er} sont consacré à la microbiologie de l'eau ; focalisé sur les traitements des eaux polluées pour mieux les valorisées et le devenir des micro-organismes pathogènes libérés dans l'environnement est également abordé. Le 2^{ième} chapitre donne une description du monde microbien marin et de son évolution. Le 3^{ième} chapitre présente la diversité des micro-organismes dite telluriques, leur capacité d'adaptation à différentes conditions environnementales. Dans cette même partie sont traités du rôle des micro-organismes dans le fonctionnement des écosystèmes naturels par l'étude des cycles biogéochimiques des éléments biogènes, par leur intervention dans le fonctionnement des réseaux trophiques et par l'exploitation de leur capacité à dégrader les déchets et les polluants chimiques. Le 4^{ième} chapitre ouvre une optique sur le microbiote intestinal humain ainsi son rôle primordial dans le bien-être de notre organisme dès la naissance. Le 5^{ième} et dernier chapitre a pointé sur les sources de contamination et les méthodes d'entretien et d'hygiène des locaux. L'ouvrage s'adresse prioritairement aux étudiants des licences Microbiologie et Biotechnologie et des masters Microbiologie appliquée et Biotechnologie microbienne.

TABLE DES MATIERES

Préface	I
Introduction	II
Chapitre 1	
La microbiologie des eaux	
1. Généralités	4
2. Caractéristiques des eaux usées	5
2.1. Les eaux domestiques	5
2.2. Les eaux industrielles	6
2.3. Les eaux pluviales	6
2.4. Les sources de contamination	7
2.5. La mesure des matières polluantes des eaux usées	8
2.6. Le lagunage	9
2.6.1. Principe général	9
2.6.2. Les organismes vivants et leur rôle dans le traitement	11
2.6.3. Mécanisme d'élimination de la matière azotée	13
2.6.4. Performance du lagunage au niveau bactériologique	13
2.6.5. Les différents types de lagunage	13
2.6.6. Pourquoi le lagunage n'est-il pas généralisé ?	15
2.7. Les stations d'épuration	15
2.7.1. Les prétraitements	15
2.7.2. Le traitement primaire	17
2.7.3. Les traitements secondaires	18
2.7.3.1. Bassin à boues activées	18

2.7.3.2. Le lit bactérien	19
2.7.3.3. Le lit immergé	20
2.7.4. Le procédé de boues activées	21
2.7.5. Les traitements complémentaires	21
2.7.5.1. L'élimination de l'azote	22
2.7.5.2. L'élimination du phosphore	22
2.7.5.3. L'élimination des microorganismes	23
2.7.6. Le traitement des boues	23
2.7.6.1. Réduction du pouvoir fermentescible	23
2.7.6.2. La réduction du volume	24
2.7.6.3. Utilisation finale	25

Chapitre 2

La microbiologie marine

1. La flore bactérienne marine	26
2. Le comportement des bactéries entériques en mer	27
2.1. Les microbes libres	27
2.1. Les formes de résistance	27
2.2. Les microbes adsorbés	28
2.3. Les microbes absorbés	28
3. Paramètres d'analyse microbiologiques	28
3.1. Les indicateurs microbiens	29
3.1.1. Les coliformes totaux	29
3.1.2. Les coliformes fécaux	29
3.1.3. Les streptocoques fécaux	30
3.1.4. La flore mésophile aérobie totale	31

3.1.5. Les germes pathogènes	31
1. Les Salmonelles	31
2. Les staphylocoques	32
3. Les Clostridium sulfito-réducteurs	33
4. L'autoépuration des eaux de mer	34
4.1. Facteurs influant sur la teneur microbienne globale	34
4.1.1. Facteurs physico-chimiques	34
4.1.2. Facteurs biologiques	35
5. Devenir et évolution d'une pollution bactérienne en milieu marin	36
5.1. La contamination de l'eau	36
5.2. La décantation des bactéries	37
5.3. La contamination du sédiment	37
6. Impact sanitaire des contaminations microbiennes	37
6.1. Risque lié à la baignade	38
6.1.1. Les affections cutano-muqueuses	38
6.1.2. Les affections gastro-intestinales	38
6.2. Risque lié à la consommation des fruits de mer	38

Chapitre 3

La microbiologie du sol

1. Généralités	40
2. Composition de la microflore du sol	41
2.1. Les bactéries	43
2.1.1. Distribution et abondance	43
2.1.2. Classification	43
2.1.3. Influence de l'environnement édaphique	44
2.2. Les actinomycètes	46

2.2.1. Distribution et abondance	46
2.2.2. Classification	46
2.2.3. Influence de l'environnement édaphique	46
2.3. Les champignons	47
2.3.1. Distribution et abondance	47
2.3.2. Classification	47
2.3.3. Influence de l'environnement édaphique	48
2.4. Les algues	49
2.4.1. Distribution et abondance	49
2.4.2. Influence de l'environnement édaphique	49
3. Les cycles biogéochimiques	50
3.1. Généralités	50
3.2. Cycle de carbone	50
3.3. Cycle de l'azote	51
3.4. Cycle de soufre	53
3.5. Cycle de phosphore	55
3.6. Cycle de fer	56
4. Les couplages des cycles	57

Chapitre 4

La microbiologie du tube digestif humain

1. Le microbiote intestinal	58
2. Acquisition des communautés bactériennes intestinales	59
3. Diversité du microbiote intestinal	60
4. Facteurs influençant la composition et la stabilité du microbiote intestinal	61
4.1 La génétique de l'hôte	62
4.2. L'environnement de l'hôte	62

Chapitre 5

Contamination et hygiène des locaux

1. Source de contamination	63
2. Hygiène de l'environnement	64
3. Entretien, hygiène et salubrité	65
3.1. Nettoyage	67
3.2. Assainissement et désinfection	68
3.2.1. Assainissement	68
3.2.2. Désinfection	69
4. Principes et méthodes d'entretien	70
5. Prévention de la contamination croisée	71
Références bibliographiques	73

Introduction

Depuis que les premiers organismes vivants, avec les ancêtres des actuelles bactéries, sont apparus sur Terre, voilà environ 3,5 milliards d'années à la suite de phénomènes qui se sont déroulés sur quelques centaines de millions d'années (Bertrand et al., 2015), les micro-organismes ou protistes ont été amenés à coloniser tous les compartiments de l'enveloppe terrestre. Cela concerne notamment les deux grands compartiments où la vie est particulièrement active, à savoir les sols et les océans incluant les eaux continentales et les sédiments récents, qui renferment l'ensemble des grands groupes microbiens (bactéries, champignons, algues, protozoaires). Ils s'y sont développés, plus particulièrement les communautés bactériennes, en mettant en œuvre des stratégies énergétiques et nutritionnelles très diversifiées. Ces communautés microbiennes sont en effet très abondantes (1 g de sol contient dans les horizons de surface 10^6 à 10^9 bactéries), ubiquistes et à grande diversité fonctionnelle : elles peuvent vivre tant en milieu minéral qu'en milieu organique et en présence ou absence d'oxygène, qu'en milieu très acide ou très alcalin, en conditions de faibles ou fortes salinités ou bien encore en milieux particulièrement froids ou très chauds (Madigan et al., 2000). Les micro-organismes du sol, des eaux douces, des sédiments et des océans peuvent vivre en présence ou en absence d'oxygène. Ils possèdent des systèmes de

respiration aérobie (oxygène accepteur d'électrons), et c'est le cas de pratiquement tous les champignons et d'un grand nombre de bactéries. D'autres populations peuvent vivre en absence et en présence d'oxygène : ce sont des organismes aéro-anaérobies. D'autre part, un grand nombre de communautés bactériennes vivent en absence totale d'oxygène. Ce sont les bactéries anaérobies strictes. Ces bactéries disposent de système de respiration anaérobie et utilisent des accepteurs d'électrons minéraux autres que l'oxygène (nitrate, fer ferrique, manganèse manganique, sulfate, dioxyde de carbone et, pour quelques-unes, des accepteurs organiques par exemple, fumarate). Certaines bactéries et quelques champignons (par exemple les levures) utilisent comme accepteurs d'électrons des produits organiques issus de leur catabolisme (qu'ils produisent eux-mêmes). Leur métabolisme est dit « fermentaire ». Ces fermentations se déroulent en conditions anoxiques.

Ces diverses communautés microbiennes jouent un rôle majeur dans un grand nombre de domaines :

- La biodégradation et minéralisation des matières organiques et la production de nutriments. Elles sont fondamentalement impliquées dans la production des

formes assimilables de l'azote, du phosphore, du soufre, du fer. . . et la libération d'éléments nutritifs (potassium, calcium, magnésium. . .) ;

- Les réactions d'oxydoréduction, de méthylation, de déméthylation qui déterminent directement les changements d'état de nombreux éléments majeurs ou en traces et de radionucléides (carbone, azote, soufre, fer, manganèse. . . mercure, sélénium, chrome, arsenic) ;
- Le fonctionnement des cycles biogéochimiques : C, N, P, S, Fe. . . dont elles régulent et déterminent même totalement certaines étapes ;
- Le couplage de cycles biogéochimiques (par exemple, C et N ; C et Fe ; C-Fe-S et éléments en traces associés. . .) ;
- La production de gaz à effet de serre (CO_2 , CH_4 , N_2O . . .) et la qualité de l'atmosphère ;
- L'altération et la néoformation de minéraux ;
- Les changements de conditions acido-basiques et oxydoréductrices du milieu ;
- La formation d'associations bénéfiques (ou non) avec les racines des plantes, la faune du sol : associations rhizosphériques symbiotiques ou non symbiotiques améliorant la nutrition végétale, associations synergiques avec les divers animaux du sol : lombrics, termites, collemboles améliorant l'humification, la structure du sol (Lavelle et Spain 2001) ;
- La qualité des eaux : épuration par biodégradation des composés organiques d'origine naturelle ou anthropique ou par biosorption ou bioaccumulation de métaux, mais aussi dégradation par acidification des eaux par production d'acides (par exemple, nitrique, sulfurique. . .) ;
- La qualité et le rendement des productions végétales ;
- Le traitement de pollutions organiques et minérales, de déchets. . . ;
- Le traitement de matières premières (extraction-accumulation de métaux, élimination de substances indésirables. . .) ;
- La formation de dépôts minéraux (gisements).

Les eaux usées urbaines et leur épuration

1. Généralités

L'homme utilise pour sa consommation domestique entre 100 et 200 L/jour et par habitant.

Cette consommation est répartie de la façon suivante :

Boisson	1 %
Toilette et cuisine	49 %
Chasse d'eau	35 %
Lavage	10%
Arrosage	5 %

L'industrie utilise une importante quantité d'eau, mais toute celle-ci n'est pas forcément consommée. Par exemple, l'industrie nucléaire, prélève l'eau en masse pour le refroidissement, mais la quasi-totalité de cette eau est ensuite rendue à la nature : il n'y a donc qu'une légère consommation.

Les industries les plus gourmandes en eau sont les industries de transformation. Les quatre secteurs d'activité que sont la chimie de base et de production de fils/fibres synthétiques, l'industrie du papier et du carton, la métallurgie, la parachimie et l'industrie pharmaceutique, totalisent à eux seuls les deux tiers de toutes les consommations industrielles.

Quelques exemples:

- Laiterie 2 à 10 L/L de lait travaillé
- Sucrierie 2 à 15 m³/tonne de betteraves
- Aciéries 6 à 300 m³/t de produit fabriqué
- Chimie 200 à 1 000 m³/t de produit fabriqué
- Pétrole 0,1 à 40 m³/t de produit fabriqué

La qualité requise pour cette eau industrielle dépend de son usage : les industries agroalimentaires par exemple ont besoin d'eau potable ; l'industrie électronique requiert quant à elle une eau très pure pour la réalisation de ses puces. Dans d'autres cas, une eau même usée peut être suffisante.

2. Caractéristiques des eaux usées

On distingue trois grandes catégories d'eaux usées : les eaux domestiques, les eaux industrielles, les eaux pluviales.

Les cours d'eau ont une capacité naturelle d'épuration. Mais cette capacité a pour effet de consommer l'oxygène de la rivière et n'est pas sans conséquences sur la faune et la flore aquatiques. Lorsque l'importance du rejet excède la capacité d'auto-épuration de la rivière, la détérioration de l'environnement peut être durable. Les zones privées d'oxygène par la pollution entraînent la mort de la faune et de la flore ou créent des barrières infranchissables empêchant notamment la migration des poissons. La présence excessive de phosphates, en particulier, favorise le phénomène d'eutrophisation, c'est-à-dire la prolifération d'algues qui nuisent à la faune aquatique, peuvent rendre la baignade dangereuse et perturbent la production d'eau potable.

2.1. Les eaux domestiques

Elles proviennent des différents usages domestiques de l'eau. Elles sont essentiellement porteuses de pollution organique. Elles se répartissent en eaux ménagères, qui ont pour origine les salles de bains et les cuisines, et sont généralement chargées de détergents, de graisses, de solvants, de débris organiques, etc. et en eaux "vannes" ; il s'agit des rejets des toilettes, chargés de diverses matières organiques azotées et de germes fécaux.

La pollution journalière produite par une personne utilisant de 150 à 200 litres d'eau est évaluée à :

- de 70 à 90 grammes de matières en suspension
- de 60 à 70 grammes de matières organiques
- de 15 à 17 grammes de matières azotées
- 4 grammes de phosphore
- plusieurs milliards de germes pour 100 ml.

2.2. Les eaux industrielles

Elles sont très différentes des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus de matières organiques, azotées ou phosphorées, elles peuvent également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques, des hydrocarbures. Certaines d'entre elles doivent faire l'objet d'un prétraitement de la part des industriels avant d'être rejetées dans les réseaux de collecte. Elles sont mêlées aux eaux domestiques que

lorsqu'elles ne présentent plus de danger pour les réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des usines de dépollution. Les grandes entreprises sont toutes équipées d'unités de traitement interne. En vingt ans, la pollution industrielle a été réduite de moitié. Ce sont actuellement les PME (garages, pressing, entreprises de peintures ...) qui produisent plus de 90% de la pollution par déchets toxiques.

2.3. Les eaux pluviales

Elles peuvent, elles aussi, constituer la cause de pollutions importantes des cours d'eau, notamment pendant les périodes orageuses. L'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air (fumées industrielles), puis, en ruisselant, des résidus déposés sur les toits et les chaussées des villes (huiles de vidange, carburants, résidus de pneus et métaux lourds...). En outre, lorsque le système d'assainissement est dit "unitaire", les eaux pluviales sont mêlées aux eaux usées domestiques. En cas de fortes précipitations, les contraintes de préservation des installations d'épuration peuvent imposer un déversement ("délestage") de ce "mélange" très pollué dans le milieu naturel. Enfin, dans les zones urbaines, les surfaces construites rendent les sols imperméables et ajoutent le risque d'inondation à celui de la pollution.

2.4. Les sources de pollutions

Substances	Origines	Effets
Hydrocarbures Essences, huiles	Transports routiers, industries, accidents pétroliers, fuites lors des déchargements des pétroliers, lessivage par la pluie des zones urbaines (parking, route)	Altération des mécanismes physiologiques de tous les organismes vivants
Métaux lourds	Transports routiers, industries métallurgiques et pétrochimiques, peinture et carénage des bateaux	Affectent surtout les animaux Ralentissement de la croissance Altération des organes Classement par ordre de nocivité croissante : Hg > Ag > Cu > Cd > Zn > Pb > Cr > Ni > Co
Pesticides et insecticides	Utilisation domestique, agriculture	Trouble du métabolisme et du système neurologique Altération des processus enzymatiques
Composés azotés et phosphatés	Agriculture, aquaculture, industries agroalimentaires, eaux usées domestiques	Phénomène d'anoxie et d'eutrophisation
Détergents	Eaux domestiques, industries	Affectent les plantes et les algues Effet amplifié si combinaison avec des hydrocarbures
Matières en suspension MES	Eaux usées domestiques, lessivages des sols, industries	Diminution apport de lumière

2.5. Comment mesure-t-on les matières polluantes contenues dans les eaux usées ?

Trois principaux paramètres mesurent les matières polluantes des eaux usées domestiques :

- Les matières en suspension (MES) exprimées en mg par litre. Ce sont les matières non dissoutes de diamètre supérieur à 1 μ m contenues dans l'eau. Elles comportent à la fois des éléments minéraux et organiques et décantent spontanément.
- La demande biochimique en oxygène (DBO), exprimée en mg d'oxygène par litre. Elle exprime la quantité de matières organiques biodégradables présentes dans l'eau. Plus précisément, ce paramètre mesure la quantité d'oxygène nécessaire à la destruction des matières organiques grâce aux phénomènes d'oxydation par voie aérobie. Pour mesurer ce paramètre, on prend comme référence la quantité d'oxygène consommé au bout de cinq jours. C'est la DBO₅, demande biochimique en oxygène sur cinq jours.
- La demande chimique en oxygène (DCO), exprimée en mg d'oxygène par litre. Elle représente la teneur totale de l'eau en matières oxydables. Ce paramètre correspond à la quantité d'oxygène qu'il faut fournir pour oxyder par voie chimique ces matières.

Les teneurs en azote et en phosphore sont également des paramètres très importants, à cause des problèmes d'eutrophisation expliqués plus haut. Cette fragilité du milieu naturel a été prise en compte par la réglementation avec la notion de "zones sensibles".

Pour évaluer la traitabilité d'une eau usée par voie biologique on prend en compte :

- ✓ Le ratio DCO/DBO₅ qui ne doit pas excéder 3. Au delà la fraction représentée par la DCO « dure » (non biodégradable) est trop importante par rapport à la fraction de la DCO biodégradable (mesurée par la DBO₅).
- ✓ Le ratio C/N/P qui idéalement devrait être 100/5/1 pour une digestion optimale de la pollution par les biomasses épuratrices.

Les eaux usées urbaines contenant aussi des contaminants microbiologiques, bactéries,

virus pathogènes et parasites, le rejet des eaux usées à proximité de lieux de baignade ou de zone d'élevage de coquillages fait courir un risque pour la santé. Il doit faire l'objet de précautions particulières.

Pour quantifier globalement les matières polluantes contenues dans les eaux usées domestiques (et assimilées), on utilise comme unité de mesure l' "équivalent-habitant" : EH. La notion d'équivalent- habitant est utilisée pour quantifier la pollution émise par une agglomération à partir de la population qui y réside et des autres activités non domestiques. Selon la définition de la directive européenne du 21 mai 1991 "relative au traitement des eaux urbaines résiduaires", un équivalent-habitant représente une DBO₅ de 60 g d'oxygène par jour.

A titre d'exemple, la quantité de matières polluantes produite par Paris représente 13,4 millions d'équivalents-habitants par jour. Cette notion sert aussi à déterminer la capacité de traitement d'une station d'épuration urbaine.

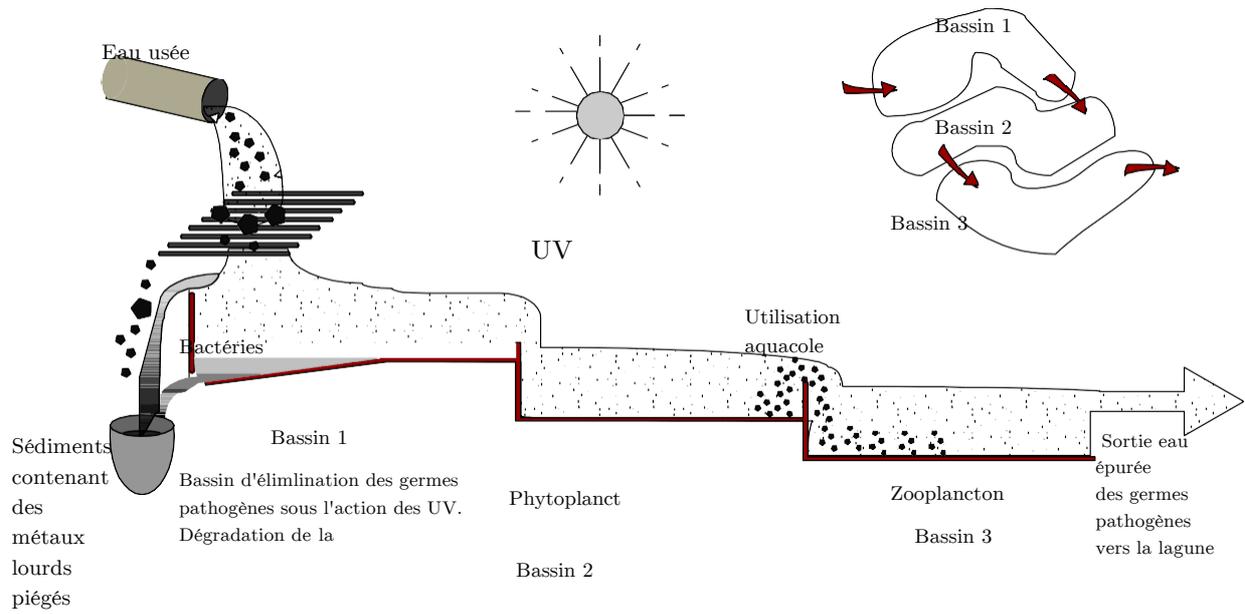
2.6. *Le lagunage*

2.6.1. Principe général

Le lagunage est un procédé naturel d'épuration des eaux usées qui permet une séparation des éléments solides de la phase liquide par sédimentation, et une épuration biologique due essentiellement à l'action des bactéries (Figure 1).

Les bassins de lagunage sont généralement aux nombres de trois. Ils sont destinés à recevoir de l'eau, la traiter pendant un certain temps pour la restituer ensuite au milieu récepteur. Un bassin de lagunage, s'il est assez simple dans sa réalisation et dans son aspect extérieur, est en réalité un système d'épuration où entrent en jeu toute une série de processus physiques, chimiques et biologiques extrêmement complexes.

Le fonctionnement repose sur la constitution d'une chaîne alimentaire complète, il est basé sur la symbiose entre de véritables êtres vivants : les algues et les bactéries. L'écosystème est très complexe car l'action des êtres vivants est dépendante de très nombreux facteurs non maîtrisables : la température, l'ensoleillement...



matière organique en éléments minéraux par les bactéries.

Prolifération de phytoplancton puis zooplancton (bassin 2 et 3)

2.6.2. Les organismes vivants et leur rôle dans le traitement

Ces multiples espèces peuvent varier en fonction des effluents traités, des conditions climatiques, de la charge organique, de la profondeur d'eau. Les principaux groupes sont les bactéries, les algues et le zooplancton.

Les bactéries

Ce sont des micro-organismes qui peuvent dégrader et assimiler une grande partie de la matière organique contenue dans les eaux usées. Ces bactéries rejettent dans le milieu des produits de dégradation qui sont les matières minérales solubles et les gaz dissous. En fonction de l'équilibre du milieu et en particulier des taux d'azote et de phosphore, les bactéries les mieux adaptées se développent rapidement et dominent les autres espèces. On constate une régulation naturelle du taux bactérien en fonction de la matière organique présente dans le milieu et des autres conditions de développement (température, ensoleillement, pH, oxygène dissous...).

Quelque soit le processus biologique considéré, on trouve :

- Les bactéries aérobies qui transforment en présence d'oxygène dissous, la charge organique dissoute en matières minérales (nutriments) et gaz. Les bactéries du cycle de l'azote assurent la nitrification (formation de nitrites) et la nitrification (formation de nitrates).
- Les bactéries anaérobies qui sont essentiellement méthanogènes (formation de méthane) réalisent la transformation de la matière organique au niveau des sédiments.

Les algues

Ce sont des plantes microscopiques planctoniques. Elles sont représentées dans les lagunes principalement par les espèces suivantes :

- Algues bleues (cyanophycées) proches des bactéries,
- Algues vertes (chlorophycées),
- Algues brunes (chrysophycées),
- Eugléniens.

Dans le cas d'un bon fonctionnement, les bassins de lagunage (surtout ceux en fin de filière) ont une couleur verte plus ou moins prononcée. La chlorophylle contenue dans les micro-algues leur permet d'utiliser la lumière du soleil comme source d'énergie : c'est la base du processus de la photosynthèse. Les algues se développent à la lumière en prélevant dans l'eau du gaz carbonique et des sels minéraux et en y rejetant de l'oxygène. Les algues sont ainsi les principaux producteurs d'oxygène des lagunes. Cette production s'effectue essentiellement dans la couche d'eau superficielle (jusqu'à 40-50 cm).

Dans les bassins du lagunage les microalgues se succèdent au cours du temps. Cela constitue une pollution apparemment négligeable car l'épaisseur des sédiments dans les derniers bassins de lagunage ne dépasse pas les 5 à 10 centimètres. L'effluent rejeté dans le milieu récepteur contient donc des microalgues en suspension représentant indirectement une pollution particulaire organique importante (leur teneur en matières en suspension pouvant atteindre 0.2 kg/m³).

Les bassins de lagunage sont classés parmi les procédés moyennement performants permettant un rejet de niveau d (120 mg/l de MES). Il n'existe pas de station de lagunage naturel qui possède une unité de récupération et de valorisation des microalgues rejetées.

Le zooplancton

La faune à une importance essentielle dans le fonctionnement des lagunes et de nombreux organismes participent activement à l'épuration du milieu (prédation, filtration)

On trouve :

- Les protozoaires, qui sont des organismes unicellulaires prédateurs des bactéries. Ils constituent le seul zooplancton hivernal réellement abondant dans les derniers bassins de lagunage.
- Les rotifères, sont des vermiens microscopiques, ils filtrent activement le phytoplancton et sont capable de s'accommoder à des taux d'oxygène dissous très faibles.
- Les copépodes, sont des crustacés de petites tailles qui nagent à la surface de l'eau et ont un développement limité dans l'espace et le temps. Leur spectre alimentaire est pourtant très étendu : microalgues, proies vivantes...
- Les cladocères, sont également de petits crustacés. Les daphnies sont les plus répandues et les plus caractéristiques. Leur rôle est intéressant car elles favorisent l'abattement du taux des matières en suspension. Elles permettent ainsi un éclaircissement du milieu et la pénétration de la lumière. Par contre elles provoquent une diminution du taux

d'oxygène dissous à cause de leur respiration et de l'élimination des microalgues.

2.6.3. Mécanisme d'élimination de la matière organique

Le processus biologique d'épuration par cette écotechnique permet l'élimination des matières organiques biodégradables avec production de sels minéraux. Ceci conduit au phénomène d'eutrophisation qui se manifeste par une prolifération de micro-algues qui croissent sous l'effet conjugué de la présence des dérivés azotés et phosphorés dans l'eau et de la photosynthèse due aux radiations solaires. Ce phénomène d'eutrophisation si nuisible pour les eaux naturelles, s'avère profitable dans le processus du lagunage. La destruction de la matière organique s'opère grâce à une association biologique extrêmement large.

2.6.4. Performances du lagunage au niveau bactériologique

C'est un avantage essentiel que présente le lagunage par rapport aux techniques " intensives " d'épuration des eaux usées. Le procédé de traitement par lagunage est en effet considéré comme parfaitement efficace au point de vue bactériologique. En matière de décontamination microbienne, on parle souvent d'abattements de la charge bactériologique en puissance de 10 (unité $\log 10 = \text{UL}$). Sauf cas particulier, on recherche une réduction d'au moins 4 UL, soit un rendement de 99.99%. Cette efficacité est due à de multiples facteurs d'ordre physico-chimique ou biologique. L'épuration microbiologique dépend du temps de séjour mais aussi du nombre de bassins mis en œuvre. Trois bassins en série (abattement de 4 UL) semblent en général un compromis acceptable pour un traitement principal par lagunage naturel.

2.6.5. Les différents types de lagunage

Le lagunage est dépendant des facteurs climatiques surtout de la température (qui va favoriser l'action des bactéries, l'évaporation), du vent (qui va favoriser les échanges gazeux, le brassage de l'eau); la pluviométrie (pour le niveau de l'eau), et l'ensoleillement (qui permet la photosynthèse). Le rendement épuratoire varie selon la taille, la forme et le nombre de bassins qui est fonction du temps de séjour et des conditions climatiques locales.

Un système de lagunage est généralement constitué de trois bassins en série. Sur ce modèle de base, de nombreuses filières de traitement peuvent être adapté selon les besoins.

Le lagunage naturel (aérobie)

Le rayonnement solaire est la source d'énergie qui permet la production de matière vivante par les chaînes alimentaires aquatiques (chaînes trophiques). L'épuration des effluents est réalisée essentiellement par des bactéries aérobies dont l'oxygénation est assurée par l'action chlorophyllienne de végétaux qui participent aussi à la synthèse directe de la matière organique.

Le lagunage aéré

Contrairement au lagunage naturel où l'oxygène est fourni par la photosynthèse et le transfert à l'interface eau-atmosphère, dans le cas du lagunage aéré l'oxygène est produit artificiellement (aérateurs mécaniques, insufflation d'air...).

A la différence des "boues activées", il n'y a pas de recirculation de la culture bactérienne. C'est donc un procédé intermédiaire entre le lagunage naturel et les procédés biologiques traditionnels. Le traitement se compose de deux types de lagunes : lagune d'aération et lagune de décantation.

Le lagunage anaérobie

Dans ces lagunes, le rendement d'épuration escompté dépend essentiellement du développement d'une fermentation méthanique. Il n'est de ce fait applicable que sur des effluents à fortes concentrations et, le plus souvent, à titre de pré-traitement avant un deuxième stade d'épuration de type aérobie.

Les principes fondamentaux de ce système d'épuration sont surtout utilisés en climat tropical.

Le lagunage à haut rendement

C'est une technique particulière où l'épuration des eaux usées est obtenue grâce à une production algale particulièrement intensive. Dès sa création, le lagunage à haut rendement a été considéré non seulement comme une technique d'épuration des eaux usées, mais aussi comme un procédé de production d'une biomasse algale d'intérêt alimentaire, permettant donc une valorisation des eaux usées des villes et des industries agroalimentaires. Le lagunage à haut rendement offre aujourd'hui certainement le plus grand potentiel de développement biotechnologique basé sur les micro-algues.

2.6.6. Pourquoi le lagunage n'est-il pas généralisé ?

Le lagunage est dans certains domaines plus performants que les stations d'épuration, il représente des coûts d'investissement et de fonctionnement bien inférieur également. En revanche il nécessite une surface importante par équivalent habitant et

des temps de séjours de l'eau usée extrêmement important. Une telle technologie n'est donc pas compatible avec les besoins d'une grande agglomération en termes d'emprise au sol et de flux quotidiens à traiter.

2.7. Les stations d'épurations

2.7.1. Les prétraitements

Les effluents doivent subir avant le traitement proprement dit, un prétraitement comportant un certain nombre d'opérations à caractère physique ou mécanique. Le but est dans ce cas d'extraire et d'éliminer de l'eau les éléments solides en suspension ou en flottation et qui pourraient constituer une gêne pour les traitements ultérieurs.

Les traitements successifs sont le relevage
le dégrillage
le dessablage - déshuilage

Le relevage est nécessaire avant tous prétraitement pour assurer un passage gravitaire de l'eau dans les différents ouvrages de traitement, le niveau d'entrée des eaux à épurer étant plus bas que le niveau de sortie du clarificateur des eaux épurées avant rejet dans le milieu naturel. On utilise alors un système de relevage assuré par des pompes à roues multicanales fermées ou par vis d'Archimède.

Le dégrillage consiste à retenir les gros déchets solides au moyen de grilles à barreaux verticaux dont l'écartement varie entre 3 et 100 mm en fonction de l'efficacité voulue. Sont ainsi éliminés les bois, plastiques, papiers, bouteilles, feuilles qui sont susceptibles de provoquer des dégâts aux conduites et machines des différentes unités de l'installation. Dans une STEP pour eaux résiduelles, l'écartement est de l'ordre de 10 à 30 mm. Le volume des matières dégrillées est de 5 à 10 dm³ par usager et par an pour un espacement d'environ 20 mm.

Le dessablage est de plus en plus associé dans le même ouvrage au déshuilage. Il a pour but d'extraire des eaux brutes les sables, les graisses et particules minérales plus ou moins fines en suspension, de manière à éviter l'abrasion des pompes et conduites en aval. Le sable se dépose dans le fond de l'ouvrage, est raclé ou sucé par pompes montées sur pont roulant. Le volume extrait par habitant et par an est de l'ordre de 5 à 12 dm³. Les huiles et les graisses en principe flottent car leurs densités sont inférieures à celle de l'eau. On utilise souvent une aération sous forme de bulles d'air qui

augmentent la vitesse de montée des particules grasses dont la récupération s'effectue dans une zone de tranquillisation. Le temps de séjour dans ce type d'ouvrage est de 5 à 12 minutes et le débit d'air insufflé est de l'ordre de 0,2 mètre cube et par heure.

2.7.2. Les traitements secondaires : l'étage biologique :

Si les prétraitements font appel à des procédés physiques, le traitement secondaire est une épuration biologique. C'est lors de ce traitement que s'élimine l'essentiel de la pollution carbonée biodégradable. Plusieurs types de bassins ou réacteurs sont utilisés, selon que les micro-organismes sont fixés sur un support ou en suspension dans l'eau. On parle de :

- ✓ Culture libres ou boues activées lorsque la biomasse est en suspension : ici on reproduit en accéléré les mécanismes d'autoépuration des milieux aquatiques.
- ✓ Cultures fixées ou lits bactériens lorsque la biomasse est fixée sur un support : ici on reproduit en accéléré le mécanisme de biofiltration par le sol.

2.7.2.1. Bassin à boues activées :

Il consiste à mettre en contact l'eau usée avec une biomasse épuratrice qui est en fait un écosystème simplifié et sélectionné faisant appel à des micro-organismes. Elle est constituée d'être vivants de petite taille, inférieure au millimètre, microflore de bactéries et microfaune d'animaux, protozoaires, ...

La dégradation se réalise alors par voie aérobie (en présence d'oxygène), elle consiste à transformer les impuretés grâce à l'action de la biomasse. Les bactéries digèrent la matière organique à condition de régler convenablement la quantité d'oxygène dissous dans l'eau par rapport à la concentration de la biomasse.

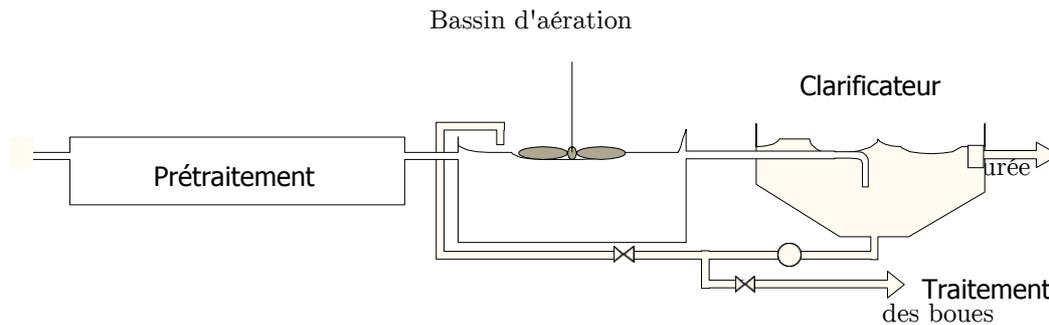
On provoque le développement d'une culture bactérienne libre sous forme de flocons dans un bassin brassé et aéré et alimenté en eau à épurer. Un brassage est réalisé en surface au moyen de turbine, ou en fond de bassin par diffusion de bulles d'air. Il a pour but d'éviter les dépôts et d'homogénéiser le mélange des flocons bactériens et de l'eau usée ; l'aération qui se fait à partir de l'oxygène de l'air a pour but de dissoudre cet oxygène dans l'eau et de répondre ainsi aux besoins des bactéries épuratrices aérobies.

Le temps de contact eau usée - biomasse est de l'ordre de 6 à 10 heures.

Une équation simplifiée du traitement secondaire peut s'écrire

eau usée + biomasse + oxygène → eau épurée + accroissement de la biomasse + gaz.

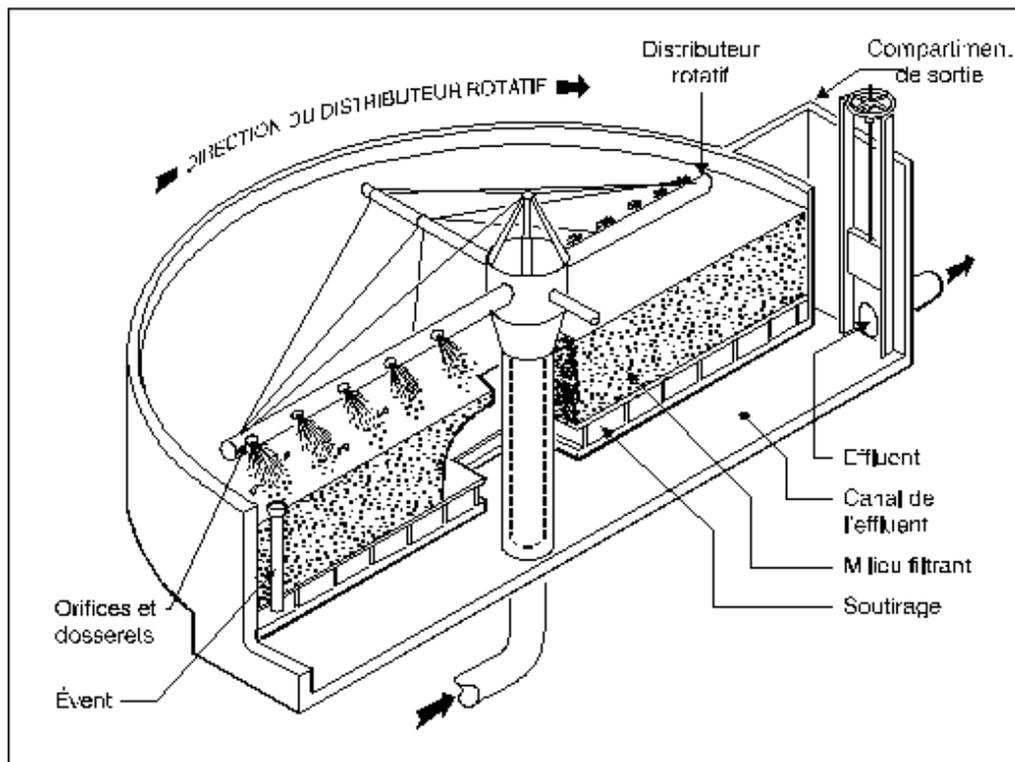
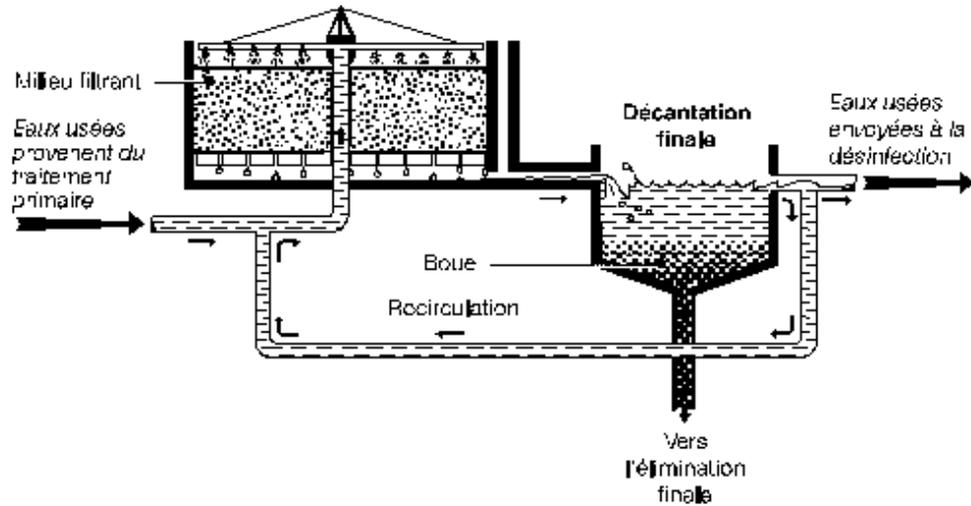
Une partie des boues formées sera recyclée dans le bassin d'aération pour en assurer le réensemencement en micro-organisme, l'excès de boues étant extrait et traité.



2.7.2.2. Le lit bactérien

Il s'agit de faire ruisseler l'eau à traiter sur un garnissage grossier sur lequel se fixent peu à peu les micro-organismes. Un film biologique aéré, de 1 mm d'épaisseur environ, est donc créée, qui permet l'élimination de la pollution organique dissoute. Les supports couramment utilisés sont : de la pouzzolane, des galets concassés de 4 à 8 cm, des garnissages plastiques, du polystyrène.

Le film biologique est constamment renouvelé par érosion due au passage de l'eau. Les boues ainsi détachées du support seront séparées de l'effluent traité.



2.7.2.3. Lit immergé :

Dérivé du lit bactérien, le lit immergé met en œuvre un support très fin, de faible densité. Les surfaces de contact entre le film bactérien et l'eau sont très importantes. De plus, le garnissage joue le rôle de filtre et permet de retenir les boues. Le développement de la biomasse et la rétention des matières en suspension entraînent un colmatage progressif du lit, ce qui nécessite des lavages périodiques. Ces lavages

sont à contre-courant de l'eau à traiter.

Les lits submergés sont aérés car la finesse du support entraîne son tassage et ne permet pas une correcte aération naturelle.

2.7.3. Le procédé de boues activées

Définition : Le procédé de la boue activée s'opère dans un bassin d'aération suivi d'un bassin de sédimentation de la boue formée, dont une partie est retournée au bassin d'aération. Toutes les matières solides en suspension dans le bassin d'aération, constituées de micro-organismes et autres matières en suspension, sont globalement connues sous le nom de boue activée, tandis que le mélange de la boue activée et de l'eau usée dans le bassin d'aération est nommé liqueur mixte. Les particules de floc sont de nature gélatineuse et contiennent une grande quantité de bactéries, en plus desquelles on peut aussi trouver des flocons, des levures, des moisissures et des protozoaires. Il est essentiel que la boue soit séparée de la liqueur mixte avant le rejet en rivière car les micro-organismes de la boue augmenteraient considérablement la DBO de l'effluent.

Importance : Le procédé de la boue activée accélère la dégradation de la matière organique grâce à l'introduction d'air qui favorise le contact de la boue chargée de bactéries avec l'eau d'égout à épurer. L'eau d'égout brute ou décantée est mélangée avec de la boue activée. Ce mélange s'écoule dans un bassin d'aération OU les micro-organismes tels que les bactéries et protozoaires transforment, en présence d'oxygène dissous, les substances dissoutes et non sédimentables en une boue sédimentable qui se déposera dans le bassin de décantation secondaire. Une portion, de cette boue riche en micro-organismes est recyclée et remélangée avec l'eau d'égout brute pour favoriser le processus de dégradation de la matière organique.

Ce mode de traitement, comme la plupart des techniques d'épuration d'ailleurs, comporte des avantages et des désavantages. Les unités de traitement sont de petite dimension et elles exigent moins d'espace, pour des charges hydraulique et organique données, que les autres techniques, compte tenu du pourcentage de la DBO enlevée. De plus, il n'y a pas de nuisances dues aux odeurs et aux mouches. En revanche, ce procédé est plus onéreux à opérer que le lit bactérien par exemple, et il peut être sérieusement affecté par certaines eaux résiduaires industrielles.

2.7.4. Les traitements complémentaires (facultatifs)

Les eaux usées contiennent divers composés azotés provenant des déjections humaines, ainsi que du phosphore provenant pour l'essentiel des détergents utilisés pour les lessives. En effet, les phosphates sont employés pour annihiler l'action du calcaire en fixant des ions calcium permettant ainsi une meilleure performance du pouvoir nettoyant du détergent.

Si ces substances ne sont pas directement nocives, leur action sur le milieu aquatique est néfaste. Elles diffusent jusqu'à la surface éclairée où elles favorisent la prolifération excessive d'algues et autres plantes vertes qui à leur tour décomposent nitrates et phosphates dont l'oxygène passe dans l'atmosphère. Elles jouent un rôle prépondérant dans l'eutrophisation des eaux.

Dans la STEP, ce traitement se généralise de plus en plus en combinaison avec le traitement secondaire. Il s'agit d'un procédé biochimique dit de boues activées à alternance de phase.

2.7.4.1. Elimination de l'azote

Dans la plupart des eaux usées, l'azote est sous forme organique ou ammoniacale (NH_4^+). Une correcte oxygénation dans le bassin d'aération permet aux bactéries de transformer l'azote organique en ammoniacque puis d'oxyder l'ammoniacque en nitrate (NO_3^-). Cette oxydation est une nitrification.

Les nitrates sont alors transformés en azote gazeux en condition anoxie :

Absence d'oxygène dissout

Présence d'oxygène combiné aux nitrates

Il faut stopper l'aération pour réaliser cette étape appelée dénitrification.

Il est à noter que dans de nombreuses installations, cette phase n'est pas distincte du traitement secondaire puisque réalisée à faible charge dans le bassin à boues. Il suffit d'alterner les phases d'aération et d'anoxie.

2.7.4.2. Elimination du phosphore

La technique la plus utilisée pour l'épuration du phosphore consiste en la précipitation chimique par adjonction de sels métalliques (fer ou aluminium), ou de chaux. Les phosphates précipitent sous forme de sels métalliques ou d'hydroxydes et sont séparés de la phase liquide par décantation.

Les principaux réactifs sont le sulfate d'alumine, d'aluminate de soude, le sulfate ferreux, le chrome ferrique, le chlorosulfate ferrique et la chaux.

L'ajout du réactif peut-être effectué :

Après les pré-traitements et avant le décanteur primaire ou le bassin d'aération, c'est la précipitation. à l'aval du clarificateur, sur l'effluent épuré : c'est la post-précipitation. Nécessité d'un décanteur supplémentaire. Directement sur le bassin d'aération : c'est la précipitation simultanée, qui est la plus utilisée.

L'élimination peut également être partiellement faite par voies biologiques, l'installation doit alors être équipée d'un bassin ou d'une zone d'anoxie. L'alternance entre aérobose et anoxie favorise un mécanisme de relarguage /sur accumulation de phosphore dans la biomasse épuratrice.

2.7.4.3. Elimination des micro-organismes

Les eaux épurées contiennent plus d'un million de micro-organismes par litre dont certaines sont néfastes pour l'homme. Lorsque l'eau épurée est rejetée en zone de captage pour l'alimentation en eau potable ou de baignade, la réduction des micro-organismes s'impose alors.

Cette réduction s'effectue sur filtre à sable qui retient les dernières particules, donc les micro-organismes qui y sont fixés par désinfection chimique (chlore, ozone ...) par lagunage lorsque aucun problème d'encombrement ne se pose.

2.7.5. Le traitement des boues

Le traitement des boues peut être assimilé à un système de traitement des déchets a part entière. La production est de l'ordre de 55 à 70 g/L d'effluent traité. Elles ont pour caractère commun d'être liquide, fermentescibles, nauséabondes et très fortement pathogènes. Une solution ancestrale (depuis 1880) consistait à épandre les boues dans des champs pour qu'elles participent à l'amendement¹ organique des sols. Cette technique reste d'actualité, mais un certain manque de souplesse dans les calendriers d'épandage, le risque biologique non nuls ainsi que la possible présence d'éléments toxiques dans les boues ont ouvert la voie à d'autres modes d'élimination. Quoiqu'il en soit avant d'être acheminées pour être éliminées, les boues vont subir différents traitements en vue de réduire leur pouvoir fermentescible ainsi que leur volume.

2.7.5.1. Réduction du pouvoir fermentescible ou stabilisation

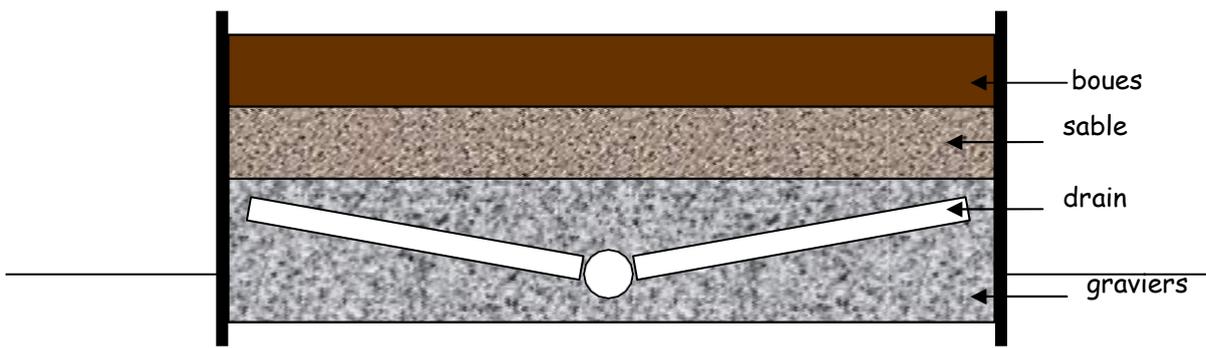
Les boues en sortie de station d'épuration sont très riches en matières organiques et en germes pathogènes. Il existe différentes techniques pour diminuer ces paramètres, les 3 principales sont :

- ✓ La digestion anaérobie : elle est basée sur le principe de fermentation méthanique aérobie. Les matières organiques complexes sont dégradées en méthane et en dioxyde de carbone. Dans les stations d'épuration importantes, le digesteur peut être couplé à une chaudière : en effet la réaction est exothermique (env 35°C) et produit environ 500L de méthane par tonnes de boues introduites. Le temps de séjour dans un digesteur varie de 20 à 40j en fonction de la technologie. Notons que cette technique réduit également le volume des boues.
- ✓ La stabilisation chimique : le pouvoir fermentescible est diminué grâce à l'incorporation de chaux ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) dans les boues fraîches.
- ✓ La stabilisation thermique : elle est réalisée par pasteurisation à une température de 70°C pendant 30minutes.

2.7.5.2. La réduction du volume

Les boues fraîches sortant des bassins de décantation primaires et secondaires sont constituées d'eau entre 95 et 99,5%. Afin de réduire les coûts de transport on essaye donc de séparer l'eau de la matière sèche. Les différentes techniques présentées sont utilisées après un premier épaissement (le plus souvent une décantation)

Les lits de séchages sont des procédés rustiques mais très utilisés Les boues sont déposées sur du sable qui lui-même repose sur des graviers, on a donc un lit drainant. La siccité² des boues atteint 40 à 60% pour un temps de séchage allant de 3 semaines à 1,5 mois. Le facteur saisonnier est bien sûr prépondérant.



Les presses à bandes sont utilisées dans les stations de taille moyenne. Un polymère (poly électrolyte) est injectée dans la boue afin de la faire flocculer. Celle-ci subit alors un égouttage sur un tapis perméable puis se retrouve serrée entre deux tapis roulants. L'eau est alors expulsée. Lorsque les deux bandes se desserrent les boues sont collectées puis envoyées en décharge. Les centrifugeuses rotatives permettent également d'éliminer l'eau des boues et de réduire leur volume.

2.7.5.3. Utilisations finales

Outre l'épandage, les boues peuvent subir une incinération ou une co-incinération. D'autres filières telles que l'oxydation par voie humide ou le compostage sont également possible.

Conclusion

Même si grâce aux équipements réalisés ces dix dernières années, le taux de dépollution s'est sensiblement amélioré, les investissements doivent être poursuivis pour permettre de rénover les réseaux et les stations qui existent et d'en créer de nouveaux là où cela est nécessaire. Ceci implique aussi en parallèle une augmentation du prix de la redevance d'assainissement pour le contribuable dans les années à venir.

Pour améliorer les traitements et les rendements d'épuration ainsi que leur efficacité, un effort constant de recherche est réalisé pour mettre au point de nouveaux procédés de traitements. L'élimination des nuisances diverses engendrées par les traitements des eaux usées constitue un autre domaine de recherche. La réduction des mauvaises odeurs, la diminution du bruit et l'intégration des stations d'épuration dans le paysage participent aussi à la protection de l'environnement. Enfin, le traitement des boues constitue un important chantier dans la perspective d'une réglementation sur la mise en décharge, soit pour la valorisation, soit pour l'élimination.

On doit également garder à l'esprit que des technologies parfaites assurant une

épuration à 100% et sans déchets terminaux n'existeront probablement jamais ou alors à des coûts prohibitifs. En conséquence, dans ce domaine comme dans d'autres l'avenir est également à la réduction des flux initiaux. Ceci implique donc un changement des habitudes en matière de consommation d'eau, aussi bien chez le particulier que dans les industries. raitement primaire (facultatif)

Le traitement primaire élimine plus de la moitié des matières en suspension et constitue une pré-épuration non négligeable quoique insuffisante pour garantir la qualité du rejet en milieu naturel. Il fait appel à différents procédés physiques ou chimiques. Les matières en suspension se déposent au fond par différence en raison d'une densité supérieure à celle de l'eau. La décantation classique est possible lorsque les eaux prétraitées séjournent en eaux calmes dans le bassin de décantation primaire. Les matières en suspension, organiques ou non, se déposent dans le fond du bassin simplement par gravité. Elles y sont raclées et évacuées formant ainsi les boues primaires.

Mais elle ne suffit malheureusement pas. En effet si le temps de décantation d'un gravier dans un mètre d'eau est de 1 seconde par la seule influence de son poids, on passe à 2 minutes pour le sable fin, à 2 heures pour l'argile, à 8 jours pour une bactérie, de 2 à 200 ans pour un colloïde. Les matières sont donc particulièrement stables en suspension et impossibles à décanter naturellement aux débits généralement admis dans une station d'épuration. Pour déstabiliser la suspension, il faut favoriser l'agglomération des colloïdes en diminuant leurs forces de répulsion électrostatique. Lorsque ces particules s'agglomèrent, il y a floculation ou coagulation. La coagulation s'obtient par addition dans l'eau d'un réactif chimique le sel d'aluminium ou de fer qui neutralise les charges électriques superficielles répulsives, et permet ainsi leur agglomération. Celle-ci est accélérée par l'ajout d'un polymère, sorte de macromolécule à longue chaîne qui emprisonne les matières colloïdales agglomérées en flocons volumineux qui se déposent par gravité. C'est le floc. Le grossissement du floc peut être encore augmenté s'il est mis en contact avec des précipités déjà formés lors d'un traitement antérieur par une re-circulation des boues et si un brassage lent de l'ensemble augmente les chances de rencontre des particules colloïdales avec le floc formé.

Ce type de traitement primaire n'est pas généralisé à toutes les STEP mais la coagulation - floculation, suivie d'une décantation permet d'éliminer jusqu'à 90% de MES et de 40 à 65% de la DBO₅ des effluents résiduels urbains.

Les résidus ainsi collectés sont particulièrement chargés en matières fermentescibles et doivent subir un traitement spécifique afin d'être stabilisés.

Dans certains cas si les éléments à éliminer ont une densité légèrement inférieure à celle de l'eau, on les élimine par flottation avec ou sans adjonction de polymère. De fine bulles sont injectées à la base du bassin pour favoriser la remontée des boues et ces dernières sont éliminées par un raclage de surface.

La microbiologie marine

1. La flore bactérienne marine

Dans les écosystèmes aquatiques, les organismes les plus nombreux sont les microorganismes, les bactéries forment la composante majoritaire. Leur rôle est fondamental dans l'équilibre écologique des milieux aquatiques, principalement par la régulation des cycles biogéochimique et énergétique (BIANCHI et *al*, 1989).

Les bactéries marines diffèrent physiologiquement de celles qui ont des habitats non marins ; elles sont très adaptées aux conditions très spéciales offertes par le milieu marin (salinité, pH, oxygénation réduite, basses températures et des pressions souvent considérables) (MORITA et COLWELL, 1974).

Dans le milieu marin, les bactéries servent de nourriture à de nombreux organismes marins, elles favorisent la fixation d'algues ou de larves sur certains substrats, elles permettent également la dégradation de certains polluants tels que naphthalène, pesticides, cellulose, hydrocarbures, etc. Cependant, leur effet peut être nuisible.

Certaines bactéries ont la capacité de concentrer des polluants tels que les métaux lourds (mercure) ; leur consommation par des mollusques filtreurs ou des vers peut contaminer la chaîne alimentaire (Equinoxe, 1990).

Les espèces prédominantes appartiennent aux genres suivants : *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Spirillum*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Bacillus*.etc. (ZOBELL, 1946 ; BERTRAND et LARSEN ,1989 ; LECLERC et al, 1994).

A côté de cette flore autochtone adaptée rigoureusement aux conditions de la vie marine, une flore accidentelle se rencontre le long des côtes, des baies ou d'estuaires et à proximité des villes introduites soit par ruissellement ou par les égouts domestiques. Les principales espèces rencontrées sont d'origines fécales appartenant au groupe des entérobactéries telles que : les coliformes, les salmonelles et les streptocoques (BELLAN et PERES, 1974).

Ces bactéries ont à la fois un rôle en pathologie et un intérêt épidémiologique (BRISOU et DENIS, 1978 ; GHAUTIER et PIETRI, 1989).

2. Le comportement des bactéries entériques en mer

Une fois déversées dans les océans, les bactéries peuvent être retrouvées sous divers formes :

2.1. Les microbes libres

Cette forme est peu favorable et n'autorise pratiquement aucune forme de croissance. La survie ne peut que modestement se prolonger. Elle place la cellule en situation de carence car les germes n'ayant rencontré aucun support, aucun refuge, restent libres mais vulnérables. Ils représentent une minorité en péril et sont incapables de reproduction et par conséquent appelés à disparaître (BRISOU et DENIS, 1978)

2.2. Les formes de résistance

Certaines bactéries vivent dans un habitat relativement stable qui n'est pas soumis à des modifications physico-chimiques profondes, tel est le cas des bactéries pathogènes, parasites ou saprophytes de l'organisme hôte. D'autres organismes au contraire doivent s'adapter à des habitats contrastés et survivre dans un milieu hostile à des variations de température, de PH et à des carences nutritionnelles. Les bactéries doivent s'adapter pour survivre :

- Les spores sont l'une des formes de résistance et d'évolution que prennent certaines bactéries pour survivre dans des conditions hostiles et attendre des conditions plus propices afin qu'elles puissent germer et donner de nouvelles cellules végétatives identiques aux cellules originelles (BRISOU et DENIS, 1978 ; LECLERC et *al*, 1995).
- Les formes L représentent des états par lesquels toutes les bactéries peuvent passer à un moment de leur existence. Ce sont en fait des « façons d'être », des instantanés de la vie microbienne, fonctions de l'environnement. Des *Salmonella*, des *Escherichia*, prennent par exemple des formes inhabituelles de serpents, de poires, dès qu'elles séjournent dans une eau de mer légèrement enrichie en matière organique. Le passage des bactéries à ces états de résistance, à été retrouvé dans les eaux d'égouts et de rivières et chez les mollusques. Ils restent le plus souvent inaperçus faute de mise en oeuvre des techniques appropriées (BRISOU et DENIS, 1978).
- Les kystes ; comme les spores ; appartiennent aux formes de résistances ; mais qui est spécifique aux parasites. C'est le cas des amibes par exemple (BRISOU et DENIS, 1978).

2.3. Les microbes adsorbés

L'adsorption d'une particule correspond à la fixation sur une autre sans intervention d'une réaction d'ordre chimique. Même si l'épaisseur de la couche adsorbée ne dépasse pas la dimension d'une molécule, l'adsorption constitue un état très favorable pour la survie bactérienne. En effet, les matériaux favorables à la survie des bactéries, sont rassemblés aux doses maximales à la surface des particules adsorbantes ; ce qui permet aux microorganismes de trouver des conditions de survie acceptables.

Les particules adsorbantes, sont représentées par les matières en suspension (MES), et qui comprennent dans ce cas :

- le *plancton* représenté par le phytoplancton et le zooplancton;
- le *tripton*, qui regroupe les organismes morts, les détritiques et des substances colloïdales. (BRISOU et DENIS, 1978)

2.4. Les microbes absorbés

Vecteur passif en cas de simple adsorption, le plancton (protozoaires, zooplancton, métazoaires et organismes filtreurs) devient vecteur actif, conservateur, protecteur, véhicule de micro-organismes s'il les absorbe. Ces organismes jouent alors le rôle de réservoirs et de vecteurs de nombreux agents pathogènes pour l'homme et les animaux (BRISOU et DENIS, 1978).

3. Paramètres d'analyse bactériologique

La charge bactérienne des eaux usées domestiques, qui représentent la principale source de micro-organismes pathogènes pour l'homme en milieu marin, est très élevée, soit 10^9 à 10^{10} germes/litre (GAUTHIER et PIETRI, 1989). Nous éliminons environ 1 kg d'excrétions (solides ou liquides) soit 70 g de matières oxydables auxquelles il faut ajouter 90 g de matières en suspensions, toute les 24 heures (FIGARELLA et al, 2001).

Les espèces considérées comme pathogènes à transmission hydrique sont réparties au sein de quatre genres : *Salmonella* (bacilles de la typhoïde, des paratyphoïdes A et B et de diverses gastro-entérites), *Shigella* (bacilles dysentériques), *Escherichia* (essentiellement *E.coli* ou colibacille) parmi les Entérobactéries, et *Vibrio* (vibrien du choléra) parmi les Vibrionacées. (BRISOU et DENIS, 1978 ; GAUTHIER et PIETRI, 1989 ; EBERLIN, 1997).

Le degré de pollution des eaux de mer est cependant, comme pour les eaux douces, évalué par le dénombrement d'autres bactéries entériques, appelés « indicateurs de contamination fécale », en général les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux (groupe D), qui sont en grande partie dénués de pathogénicité pour l'homme, mais sont très abondants dans les eaux usées. La raison de ce choix tient essentiellement au fait que la numération de ces bactéries est beaucoup plus simple et rapide (24 à 48 heures) que celle des espèces véritablement pathogènes (généralement quelques jours, avec souvent nécessité d'identification sérologique). (GAUTHIER et PIETRI, 1989).

Si la présence des espèces indicatrices ne confirme pas celle des espèces pathogènes dans les eaux analysées, elle la laisse supposer, car une certaine relation quantitative existe entre les deux groupes de bactéries (GAUTHIER et PIETRI, 1989). En effet, La présence simultanée des coliformes et des entérocoques suffit à confirmer qu'il y a pollution (BRISOU ET DENIS, 1978).

3.1. Les indicateurs microbiens

On présente ci-dessous les germes indicateurs principaux, à savoir, les coliformes, les streptocoques fécaux et les clostridiiums (sulfito-réducteurs) :

3.1.1. Les coliformes totaux

Les coliformes sont des bâtonnets (figure01), anaérobie facultatif, gram (-) non sporulant (PNUE/OMS, 1977). Ils sont capables de croître en présence de sels biliaires et fermentent le lactose en produisant de l'acide et du gaz en 48 heures à des températures de 35 à 37° C (RODIER et al, 1996). Ils regroupent les genres *Echerichia*, *Citrobacter*, *Entérobacter*, *Klébsiella*, *Yersinia*, *Serratia*, *Rahnella*, et *Buttiauxella* (RODIER et al, 1996 ; JOLY et REYNAUD ,2003). La recherche et le dénombrement de l'ensemble des coliformes (coliformes totaux), sans préjuger de leur appartenance taxonomique et de leur origine, est capital pour la vérification de l'efficacité d'un traitement d'un désinfectant mais il est d'un intérêt nuancé pour déceler une contamination d'origine fécale (RODIER et al, 1996).

3.1.2. Les coliformes fécaux

Ce sont des bâtonnets Gram (-), aérobies et facultativement anaérobies ; non sporulant, capables de fermenter le lactose avec production de l'acide et de gaz à 36 et 44°C en moins de 24 heures. Ceux qui produisent de l'indole dans l'eau peptonée contenant du tryptophane à 44°C, sont souvent désignés sous le nom d '*Eschericia Coli* bien que le groupe comporte plusieurs souches différentes (*Citrobacter freundii*, *Entérobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*...etc.) (PNUE/OMS, 1977 ; RODIER et al ,1996 ; JOLY et REYNAUD, 2003).

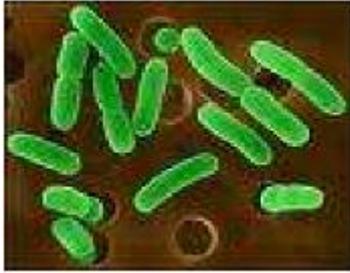


Figure1 : Coliformes fécaux

Les coliformes fécaux thermotolérants (44°C) sont considérés d'origine humaine (GAUJOUS, 1995) en voici quelques concentrations

- excréments humains 10^9 /gramme de matière fécale; - eaux usées non traitées 10^6 à 10^8 / 100ml.

Lorsqu'on les trouve ; ils dénotent normalement une pollution fécale récente car ils ne se propagent pas dans le milieu marin. Il a été signalé des taux de disparition (T-90) correspondant à une réduction de 90 % du nombre de CF d'une à trois heures qui dépendent de la salinité, de la température et des rayonnements solaires (PNUE/OMS, 1977).

Les coliformes fécaux répondent aux critères de bons indicateurs, la principale difficulté qui s'attache à leur emploi, est leur survie relativement courte en eau de mer, ce qui peut exiger un recours à des indicateurs supplémentaires (PNUE/OMS, 1977).

3.1.3. Les streptocoques fécaux

Ces bactéries appartiennent à la famille de *Streptococcaceae*, au genre *Streptococcus* et au groupe sérologique D de LanceField (SHARPE, 1979). Ils sont définis comme étant des cocci sphériques légèrement ovales, gram positifs. Ils se disposent le plus souvent en diplocoques ou en chaînettes, se développent le mieux à 37°C et ils possèdent le caractère homoférmementaire avec production de l'acide lactique sans gaz (Manuel de Bergey, 1984).

Il y a 5 espèces reconnues parmi les SF : *S. bovis*, *S. equinus*, *S. avium*, *S. faecalis* et *S. faecium*.

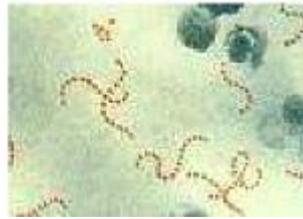
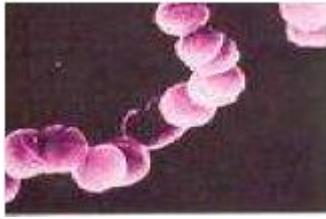


Figure2 : Streptocoques fécaux Figure3 : Streptocoques fécaux

Ils sont des témoins de contamination fécale assez résistant y compris dans les milieux salés (GAUJOUS, 1995). Ils peuvent aussi se multiplier dans les milieux présentant des pH allant jusqu'à 9.6, on peut par conséquent les utiliser comme indicateurs d'organismes pathogènes qui ont une résistance similaire au pH élevé (PNUE/OMS, 1977).

3.1.4. La flore mésophile aérobie totale

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) est utilisée comme un indicateur de pollution global. Elle englobe l'ensemble de microorganismes capables de se multiplier à l'air aux températures moyennes, surtout à une température optimale de croissance située entre 25 et 40°C.

La FMAT renseigne aussi bien sur la microflore autochtone que sur la microflore allochtone apportée par la pollution.

3.1.5. Les germes pathogènes

Ces germes proviennent le plus souvent des côtes polluées par les égouts, les effluents et d'autres sources de pollution. Ils peuvent également être natifs du milieu marin.

On présente ci-dessous, les salmonelles et les staphylocoques :

3.1.5.1. Les Salmonelles

Elles appartiennent à la famille des enterobacteriacées et sont des bâtonnets mobiles (figure 03), Gram (-), aérobies et facultativement anaérobies. Elles fermentent le glucose, le maltose et le mannitol, avec production de gaz, mais elles ne fermentent pas le saccharose. Elles réduisent le sulfite en sulfure et decarboxylent la lysine.



Figure4 : les Salmonelles Figure5 : les Salmonelles

Elles sont retrouvées dans les excréments de porteurs sains et malades d'animaux ou d'Hommes .Elles sont peut être la cause la plus fréquente d'infections des êtres humains par des organismes pathogènes à hôte animal (PNUE/OMS, 1977).

Dans le milieu marin, les exutoires d'eaux usées constituent la principale source de pollution par les salmonelles (LECLERC et al,1995).

3.1.5.2. Les Staphylocoques

Les staphylocoques sont des cellules sphérique de 0.5 à 25 um généralement regroupées en amas, ils sont immobiles et ne forment pas de spores ; ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, Gram (+), catalase (+), fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique (LECLERC et al ,1995).

L'espèce *Staphylococcus aureus* ou « staphylocoque doré » possède toutes ces caractéristiques, ajoutant à cela qu'elle est coagulase (+), il est à noter que les staphylocoques sont ubiquistes, très largement distribués dans l'environnement (LECLERC et al, 1995).

Cette famille comprend les genres suivants : *Planococcus*, *Micrococcus* et *Staphylococcus*. Kloos et Schleifer (1975) ont pu identifier 11 espèces au sein du genre *Staphylococcus*, en 1984, ils ont pu distinguer 19 espèces (Manuel de Bergey, 1984).

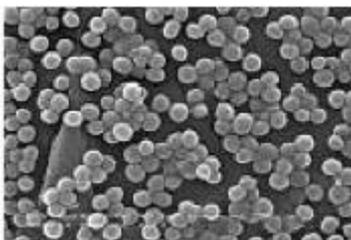


Figure6 : Staphylocoques

Parmi ces espèces, *S. aureus* revêt plus d'intérêt quant à la pollution de eaux littorales et des fruits de mer. Deux autres espèces (*S. epidermidis* et *S. saprophyticus*) sont assez fréquemment rencontrées dans l'eau, mais leur pouvoir pathogène est moins important.

La recherche des staphylocoques présente un intérêt pratique surtout dans les eaux destinées à la baignade (GAUJOUS, 1995 et RODIER et *al*, 1996).

3.1.5.3. Les Clostridium sulfito-réducteurs

Ils peuvent être considérés comme des germes fécaux, ce sont aussi des germes telluriques et de ce fait aucune spécificité d'origine fécale ne peut être attribuée à leur mise en évidence. Dans une telle optique d'interprétation il y a intérêt à ne chercher que les espèces les plus susceptibles d'être d'origine fécale, c'est le cas en particulier de *Clostridium perfringens* (RODIER et *al*, 1996). Les *Clostridium perfringens* sont des bâtonnets anaérobies, gram (+), sporulants et qui réduisent les sulfites en sulfures en 24 à 48 heures (PNUE/OMS, 1977).



Figure 7 : Clostridium perfringens

Ils sont excrétés par l'homme et les animaux, on les trouve régulièrement dans les matières fécales humaines, leur densité est la suivante (PNUE/OMS, 1977) :

- excréments humains 10^6 à 10^8 / g;
- eaux usées non traitées 10^3 / ml.

Elles sont employées comme indicateurs dans l'étude des pollutions littorales pour un certain nombre de raisons (PNUE/OMS, 1977) :

- > elles se trouvent en abondance dans les eaux usées qui sont principalement d'origine humaine;
- > elles ne se multiplient pas dans les sédiments;
- > elles survivent dans les sédiments, ce qui permet de déceler une pollution ancienne ou intermittente (RODIER et *al*, 1996).

4. L'autoépuration des eaux de mer

Les premières recherches dans ce domaine (DE GIAXA, 1889 in GAUTHIER et PIETRI, 1989) avaient clairement démontré que les micro-organismes allochtones, comme les coliformes, survivent mal dans les eaux marines, bien que les causes de cette disparition n'aient été clairement discernées.

Par la suite, de nombreux travaux ont été entrepris pour analyser ce phénomène, aussi bien *in situ* qu'au laboratoire.

Jusqu'aux années 70, il était admis que les bactéries pathogènes d'origine humaine étaient détruites en quelques heures dans l'eau de mer. Ainsi, l'autoépuration des eaux marines est le retour spontané à la normale d'un écosystème modifié, physiquement, chimiquement, biologiquement, ou le tout à la fois.

La plupart des auteurs considèrent que de nombreux facteurs environnementaux physiques, chimiques ou biologiques sont décrits comme pouvant influencer la survie des entérobactéries en eau de mer, avec cependant une importance très inégale.

On invoquait ainsi l'influence de la sédimentation après adsorption des cellules sur le matériel particulaire, l'activité létale de la salinité, des métaux lourds, de la carence en éléments nutritifs, de la lumière et le rôle antagoniste de nombreux éléments biologiques propres aux eaux usées ou au milieu marin : micro- et macro prédateurs et substances antibactériennes produites par les algues, le phytoplancton ou les bactéries et les levures.

Bien qu'un important effort de synthèse ait été fait sur ce thème, aucun *consensus* véritable n'est apparu quant à l'efficacité de l'un ou l'autre de ces facteurs dans les conditions naturelles. (GAUTHIER et PIETRI, 1989).

4.1. Facteurs influant sur la teneur microbienne globale

4.1.1. Facteurs physico-chimiques

La dilution : elle intervient immédiatement après le rejet. Elle est favorisée par le mélange des eaux : courants, turbulence et action des marées. On estime que 90 à 99% des bactéries d'égout sont détruites après 48 heures de suspension dans l'eau de mer et que leur nombre décroît avec la distance beaucoup plus rapidement que l'on pourrait s'y attendre du fait de la simple dilution (MAURIN, 1974).

L'adsorption : c'est la fixation des polluants sur toutes les particules organiques ou minérales en suspension dans le milieu aquatique. C'est un phénomène bien connu par lequel les microbes s'accrochent à des corpuscules dont ils suivent le sort ; l'adsorption

contribue donc à un isolement des germes et à une efficace dissociation de la charge polluante, car elle peut atteindre 90 à 95% des bactéries et des virus (WOOD et col, 1967 in BRISOU et DENIS, 1978).

La sédimentation : directe ou indirecte (après adsorption), elle détermine la disparition momentanée des microbes. Cette disparition peut être provisoire, car il peut y avoir remise en suspension des sédiments et des bactéries. Très efficace en eaux calmes, elle se trouve amoindrie par la turbulence du milieu (MAURIN, 1974. WILKINSON et al, 1995).

La lumière : elle intervient sur la dispersion (dilution, adsorption, sédimentation) dans le sens où elle conditionne les mouvements verticaux et horizontaux des masses planctoniques. Une action bactéricide directe de la lumière ultraviolette est en principe admise, mais est très modeste (BRISOU et DENIS, 1978) ; car son action ne dépasse pas une profondeur de 0.05m à 0.20m selon la turbidité (MAURIN, 1974).

La température de l'eau : la décroissance des bactéries augmente avec la température de l'eau. Ainsi, en période estivale, celle-ci est un des facteurs majeurs de l'épuration microbienne (MANCINI, 1978 ; FLINT, 1987).

Variations de pH : au plan microbiologique, les fluctuations naturelles de pH n'interviennent pratiquement pas. Par contre elles jouent un rôle dans les mouvements de masses planctoniques (BRISOU et DENIS, 1978).

La salinité : les fortes variations de salinité d'un milieu à l'autre, ont tendance à empêcher l'accoutumance des bactéries allochtones à leur nouveau milieu, ce qui conduit à la décroissance de leur nombre (MAURIN, 1974).

4.1.2. Facteurs biologiques

Compétition interspécifique: la présence des microorganismes autochtones, plus aptes à se multiplier dans leur milieu naturel, implique la décroissance des bactéries allochtones (FLINT, 1987).

Prédation : On peut citer les :

-Bactéries prédatrices : comme les *Bdeiovibrio* (groupe de bactéries de petite taille qui se fixent sur d'autres bactéries pour les « dévorer » ; ce sont des vibrions très mobiles qui n'attaquent que les bactéries Gram négatif) (PELMONT, 1993 ; BRISOU et DENIS, 1978) ; et les *Myxobactéries* (germes à Gram négatif ayant pour singularité d'hydrolyser les molécules insolubles, de lyser les cellules bactériennes et de les utiliser comme substrat) (BRISOU et DENIS, 1978).

-Les bactériophages : extrêmement répons dans la nature ; ils parasitent et détruisent bactéries et Cyanophycées. Ils peuvent détruire une population bactérienne entière ou seulement une partie de celle-ci, s'intégrer dans le chromosome pour établir la lysogénie (BRISOU et DENIS, 1978).

-Les prédateurs microphages : Ce sont tous les organismes qui se nourrissent de microbes. Ils sont représentés par les amibes, les flagellés, les ciliés ou des êtres plus évolués tels que les mollusques filtrants qui absorbent une grande quantité de bactéries et de virus avec leur nourriture. Il faut souligner que pour ces deux derniers, les germes absorbés ne sont pas nécessairement détruits (BRISOU et DENIS, 1978).

5. Devenir et évolution d'une pollution bactérienne en milieu marin

De nombreuses études ont été menées afin d'apporter des précisions concernant le devenir des bactéries entériques rejetées dans le milieu marin. Elles sont réalisées soit in situ soit au laboratoire pour tenter de mettre en évidence les facteurs et les paramètres intervenant dans la décroissance bactérienne dans le milieu marin (CRANE et MORE, 1986 in POMMEPUY et *al*, 1990).

5.1. La contamination de l'eau

Elle peut se faire d'une manière directe par les rejets d'eaux usées ou indirecte par la remise en suspension des particules décantées, la contamination sera dépendante de la qualité physicochimique de l'eau de mer qui conditionnera la survie ou la mort des germes.

Selon POMMEPUY et *al* (1990), les paramètres qui déterminent la mortalité des microorganismes ou leur survie dans l'eau de mer sont :

- La présence de composés organiques osmoprotecteurs qui permettent à la cellule de supporter le choc osmotique lors du passage de l'eau usée douce à l'eau de mer salée.
- La présence de matières organique assimilable
- La température de l'eau et l'effet bactéricide de l'ensoleillement car il suffit d'une exposition d'une à deux heures à l'ensoleillement pour qu'une suspension bactérienne ne devienne plus cultivable.

5.2. La décantation des bactéries

Les bactéries issues des rejets se présentent sous forme libre ou agglomérée. La décantation des bactéries est un phénomène lent car il faut en moyenne 10 heures pour que les concentrations bactériennes diminuent d'un logarithme (POMMEPUY et *al*, 1990).

Cependant cette décantation est sélective dans le sens où elle est conditionnée par la taille et la forme que peuvent prendre certaines bactéries. Par exemple les streptocoques se disposent en chaînettes de 20 à 40 μm ; ils auront tendance à se concentrer plus au fond que les coliformes 1 à 2 μm (ANONNYME, 1980).

5.3. La contamination du sédiment

Les dépôts des particules chargées de bactéries seront fonction de l'hydrodynamisme et se feront dans les zones peu profondes, abritées des courants et des clapots. Plus le sédiment est riche en matière organique plus les bactéries fécales survivront plus longtemps.

Dans le sédiment les bactéries d'origine fécale peuvent acquérir une résistance vis-à-vis des facteurs inhibiteurs par l'échange de gènes avec les bactéries autochtones (GAUTHIER, 1989).

Le sédiment peut être considéré comme un réservoir de bactéries, les temps de survie y sont très élevés et les T_{90} (temps nécessaire pour que 90 % des bactéries disparaissent) peuvent atteindre les 14 jours et exceptionnellement 40 jours lorsque les conditions y sont favorables (LE GUYARDDER et *al*, 1990 in POMMEPUY, 1990). Lorsqu'il est remis en suspension, il peut recontaminer l'eau surnageante (WOOD, 1967 in POMMEPUY et *al*, 1990).

6. Impact sanitaire des contaminations microbiennes

Les impacts associés à la contamination microbiologique des eaux littorales affectent la qualité de l'eau elle-même mais aussi celle des cheptels présents sur les sites soumis aux contaminations. C'est l'homme : l'utilisateur du littoral en qualité de « baigneur » ou de « consommateur de fruits de mer » qui suscite un grand intérêt. L'eau de mer souillée contient une large gamme de germes, virus et bactéries susceptibles de provoquer des troubles infectieux. Certaines espèces de bactéries peuvent être à l'origine de trouble infectieux, de gastro-entérites ou d'intoxication (POGGI, 1990). A côté de ces bactéries dites majeures, il convient de citer d'autres microorganismes tels que : *Proteus*, *Yersinia*, *Pseudomonas*, Entéro virus, parasites (amibes, flagellés, ciliés) qui ont un pouvoir pathogène non négligeable (BRISOU et DENIS, 1978).

6.1. Risques liés à la baignade

Dans le domaine des eaux de baignade comme pour la consommation des coquillages, l'ingestion est le mode d'agression le plus important. Un baigneur ingère de l'ordre de 75 à 100 ml d'eau en moyenne lorsqu'il nage la tête sous l'eau (POGGI, 1990).

Lorsque les eaux sont polluées, elles demeurent des agents non négligeables de diffusion de certaines maladies parmi lesquelles on retrouve :

6.1.1. Les affections cutano-muqueuses

· Maladies de la sphère O.R.L et oculaire :

Les conjonctivites sont les maladies majeures liées au séjour sur les sables de plages et les eaux de mer. Les responsables de ces affections appartiennent au groupe des « Chlamydozoons » qui peuvent préparer le terrain à d'autres bactéries (staphylocoques) et les virus (adénovirus). (BRISOU et DENIS, 1978).

Les affections de la sphère ORL sont aussi fréquentes, provoquées généralement par les streptocoques du groupe D de LANCFIELD (BRISOU et DENIS, 1978).

· Les dermatoses :

Les incidents cutanés sont fréquents chez les baigneurs et les sujets fréquentant les sables de plage. Elles reconnaissent des origines diverses :

Les bactéries banales telles que les staphylocoques, les streptocoques, les microcoques (*Micrococcus epidermis*) sont à l'origine des furonculoses, abcès et des panaris auxquelles il faut ajouter les affections génito-urinaires provoquées par les « chlamydies » généralement (BRISOU et DENIS, 1978).

6.1.2. Les affections gastro-intestinales :

Il reste entendu que la majorité de ces syndromes ont une origine bactérienne. Les salmonelles, shigelles, E.coli entérotoxique, Protéus et *Vibrio cholerae* sont les principales bactéries incriminées.

Ces bactéries sont à l'origine des diarrhées, dysenteries, fièvres typhoïdes et paratyphoïdes et le choléra (BRISOU et DENIS, 1978).

6.2. Risques liés à la consommation des fruits de mer

Les germes présents dans une eau s'accumulent dans les coquillages filtreurs. Le processus de concentration des germes, liés au taux de filtration, a fait l'objet de

nombreuses études. En retenant celles fournies par (DESLOUS-PAOLI et *al.*, 1987 in POGGI, 1990), on peut estimer la capacité de filtration des principaux bivalves à usage commercial (tableau 03).

La microbiologie du sol

1. Généralités :

Le but de ce chapitre de Microbiologie du sol est de vous permettre de considérer le sol comme un milieu biologique, comme un véritable milieu vivant, c'est à dire hautement complexe dans lequel nous nous efforcerons de comprendre un certain nombre de mécanismes. Le sol contient une multitude de cellules microbiennes actives, plus de un milliard souvent par gramme de ses constituants minéraux sable, argile, limon et des résidus organiques morts. Certains auteurs lient même comparé à un tissu vivant.

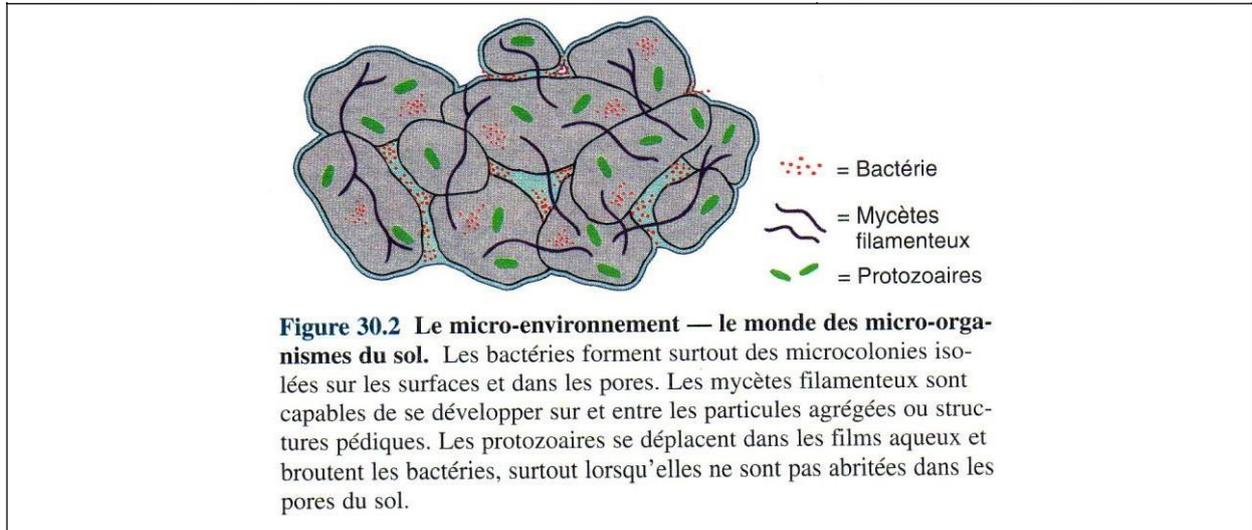
L'étude des microorganismes qui vivent dans le sol, c'est la connaissance de leur écologie, de leur rôle, rôle utile souvent, nuisible quelquefois. On se limite cependant aux microorganismes qui vivent habituellement dans le sol. Sinon il faudrait étudier toute la microbiologie, car le sol est le "dépotier universel", le déversoir dans lequel à un moment ou à un autre tous les germes de la terre peuvent passer, pathogènes y compris sans s'y maintenir obligatoirement bien longtemps. Une grande partie des activités microbiennes dans le sol échappent encore à tout contrôle technologique ; c'est seulement par la connaissance de ce monde microbien du sol qu'on peut tendre à le maîtriser dans le sens favorable, celui de la fertilité, de la détoxification des substances polluantes, de l'enrichissement en azote à partir de l'azote atmosphérique qui constitue une réserve gratuite.

La population microbienne du sol, connue sous le nom de *microflore tellurique*, se compose de six groupes principaux de micro-organismes - bactéries, actinomycètes, champignons, algues, protozoaires et virus - qui ont un rôle vital et irremplaçable à jouer à l'intérieur de la biosphère. Même si les bactéries sont les plus abondantes (voir tableau XXW -1), leur poids global sur une superficie donnée est inférieur à celui des autres organismes, car elles sont extrêmement petites. Les premiers 15 cm d'un sol en constituent, en général, la partie la plus active biologiquement.

Comment vivent les bactéries du sol?

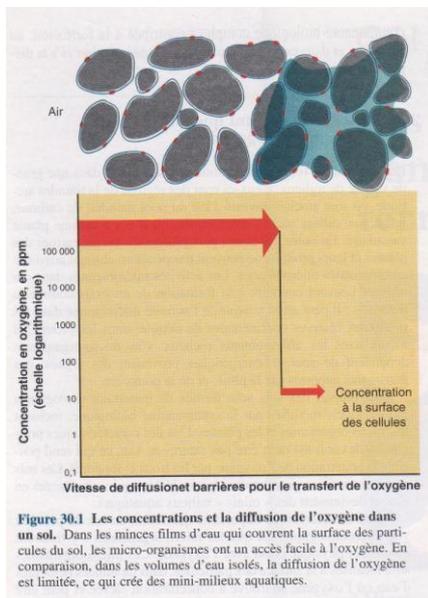
Les sols peuvent contenir une population microbienne importante:

- jusqu'à $10^8 - 10^9$ bactéries/g de terre (poids sec)
- jusqu'à plusieurs centaines de mètre de mycélium fongique/g de terre



Microbiologie souterraine

On a trouvé des bactéries à de très grandes profondeurs : 6.100 m en Alaska, 3.350 m dans une mine d'or sud-africaine. Les populations changent en fonction des paramètres physico-chimiques : notamment la diminution de l'oxygène et augmentation de la température.

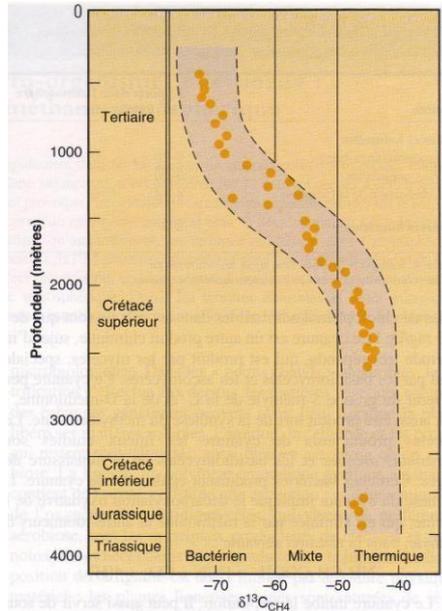


Diffusion de l'oxygène dans un sol

La diffusion de l'oxygène se fait environ 4000 x plus vite dans un sol que dans l'eau!

C'est pourquoi dans un sol saturé en eau, il y a plus d'anaérobies que d'aérobies.

La température interne du sol augmente de 3°C tous les 100 m. On pense que la limite d'occupation se trouve à 60°C (environ 2000 m). En milieu anoxique, on trouve des méthanogènes (*Archaea*) et autres bactéries lithotrophes. Elles fixent le CO₂, utilisent l'hydrogène. Ces gaz doivent être présents !



En fonction de la profondeur, le méthane est **d'origine biologique** (de 0 à 1.500 m), puis mixte, puis **d'origine chimique** (de 1.800 à 4.000 m).

Parallèlement à la profondeur, on a noté l'époque où ces couches étaient en surface : à 4.000 m la couche date du Triassique, c'est-à-dire 200 Ma. (Crétacé sup. 100 - 66 Ma; Tertiaire 66 - 2,5 Ma) L'atmosphère contient environ 1,1% de C-13.

La formation de colonies à 1500 m de profondeur, ainsi que la production de méthane par les méthanogènes, indique que ces bactéries sont actives, donc vivantes. Ces bactéries vivent en anaérobiose, elles utilisent le CO₂, l'hydrogène et des sulfures. A ces profondeurs, il n'y a plus de décomposition, donc il faut une source de CO₂ !

La microbiologie souterraine n'en est qu'à ses débuts. La difficulté majeure est de prélever des échantillons à ces profondeurs.

2. Composition de la microflore du sol

Dans un sol minéral, la population microbienne diminue rapidement avec la profondeur, tandis que, dans un sol organique, en revanche, la population bactérienne diminue à peine avec la profondeur, et elle est parfois plus grande à 160 cm qu'à la surface du sol. Dans un sol ombragé de forêt, la population la plus importante se trouve fréquemment dans le premier ou les deux premiers centimètres du sol ; dans le sol des champs, au contraire, elle se situe à plusieurs centimètres sous la surface de la croûte supérieure du sol.

2.1. LES BACTERIES

Les bactéries du sol sont en général des hétérotrophes, c'est-à-dire des organismes tirant leur énergie de la dégradation de la matière organique du sol.

2.1.1. Distribution et abondance

De tous les micro-organismes du sol, ce sont les plus abondants, leur nombre étant en général plus considérable que celui des cinq autres groupes réunis. Les bactéries sont présentes du Pole Nord au Pole Sud, dans les déserts, les cavernes, les volcans, les sources d'eau chaude, etc.

D'après Clark (1967), les bactéries les plus répandues dans le sol sont les bactéries de la famille des *Corynebacteriaceae* qui pourraient représenter jusqu'à 65 % de la microflore bactérienne totale ; les bacilles sporulés en représenteraient en gros 25%, les 10 % restants comprenant différents genres. On admet en général que la densité de la microflore bactérienne totale, exprimée en nombre de cellules bactériennes par gramme de sol, est comprise entre 10^6 et 10^9 . Il est cependant plus intéressant de connaître la biomasse (masse des organismes vivants par unité de surface) que la densité bactérienne, car elle donne une idée de la quantité de protoplasme vivant présent dans le sol. La biomasse bactérienne est de l'ordre de 1000 à 2000 kg/ha dans les sols peu peuplés, et de 3000 à 7000 kg/ha dans les sols très riches. Dans la plupart des sols, la biomasse bactérienne est inférieure à la biomasse fongique, mais supérieure à la somme des biomasses des algues, protozoaires et nématodes.

2.1.2. Classification

Les bactéries et autres organismes apparentes appartiennent à la Classe des schizomycètes, qui comprend dix ordres, dont trois seulement comprennent des espèces qui prédominent dans les sols : les *Pseudomonadales*, les *Eubacteriales* et les *Actinomycetales*. Les principales caractéristiques des genres auxquels appartiennent ces espèces sont résumées ci-après.

I - Ordre des *Pseudomonadales*

A - Famille des *Pseudomonadaceae*

- 1) Genre *Pseudomonas* : Aérobie. Bâtonnets gram-négatifs, asporulés, qui produisent souvent des pigments fluorescents bleus ou verts.

II - Ordre des *Eubacteriales*

A - Famille des *Rhizobiaceae*

- 1) Genre *Rhizobium*: Aérobie. Bâtonnets gram-négatifs, asporulés, qui vivent en symbiose avec les légumineuses pour fixer l'azote atmosphérique.

- 2) Genre *Agrobacterium* : Anaérobie facultatif. Bâtonnets courts gram-négatifs, asporulés.
- 3) Genre *Chromobacterium*: Anaérobie facultatif. Bâtonnets courts gram-négatifs, asporulés, qui produisent des pigments violets.

B - Famille des *Achromobacteriaceae*

- 1) Genre *Achromobacter* : Bâtonnets gram-négatifs, asporulés.
- 2) Genre *Flavobacterium* : Bâtonnets courts gram-négatifs, qui produisent des pigments jaune ou orange.

C - Famille des *Micrococcaceae*

- 1) Genre *Micrococcus*: De forme sphérique, asporulés, gram-positifs et parfois négatifs.
- 2) Genre *Sarcina*: De forme sphérique, asporulés, ordinairement gram-positifs.

D - Famille des *Corynebacteriaceae*

- 1) Genre *Corynebacterium* : Aérobie et anaérobie. Bâtonnets minces, droits ou incurves, gram-positifs.
- 2) Genre *Arthrobacter* : Aérobie. Organismes typiques du sol.

E - Famille des *Bacillaceae*

- 1) Genre *Bacillus*: Aérobie et anaérobie facultatif. Spore généralement centrale, non déformante.
- 2) Genre *aostridium* : Bâtonnets anaérobies qui forment des endospores.

III - Ordre des *Actinomycetales*

A - Famille des *Mycobacteriaceae*

- 1) Genre *Mycobacterium* : Aérobie. Bâtonnets gram-positifs.

2.1.3. Influence de l'environnement édaphique

Les conditions énergétiques, physiques, chimiques et biologiques qui règnent dans le sol et qui conditionnent le comportement et les réactions de la microflore tellurique sont désignées sous le terme global *d'environnement édaphique*.

Les bactéries du sol sont en majorité des chimio-organotrophes, c'est-à-dire des organismes tirant leur énergie de la dégradation de la matière organique. Le groupe des bactéries chimio-lithotrophes est aussi important, parce qu'un grand nombre des processus qu'accomplissent ces bactéries sont essentiels pour la production des récoltes. Parmi les facteurs qui influencent la nature et les activités biochimiques de la flore bactérienne du sol, on signalera en particulier l'humidité, l'aération, la température, le pH, la matière organique et les éléments inorganiques.

a) Humidité

L'eau est, certes, un des facteurs écologiques les plus puissants. Elle constitue la majeure partie du protoplasme des cellules. Un excès d'eau est néfaste à la prolifération bactérienne car il empêche les échanges gazeux et diminue la quantité d'oxygène moléculaire disponible pour les bactéries, ce qui entraîne des conditions d'anaérobiose. On trouve une densité bactérienne maximale dans des sols à teneur élevée en humidité. Le niveau optimal d'activité pour les bactéries aérobies se situe souvent dans les sols dont l'humidité est d'environ 50-70% de la capacité de rétention du sol.

b) Aération

Dans les sols bien aérés (3), les bactéries et champignons dominent, tandis que dans les sols contenant peu ou pas d'oxygène moléculaire, les bactéries sont seules responsables de la quasi-totalité des changements chimiques et biologiques qui se produisent.

c) Température

Chaque espèce bactérienne possède une température optimale de croissance et une plage de température en dehors de laquelle cesse toute activité à fin pratique. Le pourcentage des micro-organismes tués par le gel dépasse rarement 50°C ; il reste en général compris entre 10 et 20 % ,alors que la dessiccation détruit au moins 80 à 90 % des micro-organismes telluriques. On peut citer un exemple particulièrement net de la perturbation de l'équilibre biologique par la température dans le fait qu'aux températures élevées (25 à 30°C), les processus de minéralisation de l'azote organique l'emportent sur les processus d'immobilisation, alors qu'aux basses températures (inférieures à 10-15°C), c'est l'inverse. Cette stimulation relative des processus de biodégradation (minéralisation) par rapport aux processus de synthèse, qui se produit lorsque la température dépasse 25°C, explique que le stock d'humus décroît très rapidement dans les régions tropicales si l'on ne prend pas certaines précautions.

d) Survie

Mallmann et Litsky ont étudié le temps de survie de bactéries d'origine entérique dans divers types de sols contenus dans des cylindres en fer galvanisé de 101,6 cm de diamètre et de 45,7 cm de profondeur, auxquels avait été ajoutée de la boue brute stérilisée ensemencée artificiellement avec diverses cultures pures de bactéries. Au cours des dix semaines que durèrent les expériences, ils observèrent une concentration de coliformes continuellement élevée, et cela quel que fut le pourcentage de la boue ajoutée. Ils conclurent que les coliformes fécaux persistent pendant de

longues périodes dans le sol, alors que les streptocoques fécaux disparaissent rapidement.

2.2. LES ACTINOMYCETES

Les actinomycètes sont des micro-organismes unicellulaires et filamenteux que l'on situe entre les bactéries et les champignons dont ils sont voisins. Les filaments individuels peuvent mesurer de 0,3 à 1,2 μ de diamètre. Le taux de croissance de certaines espèces, dans un milieu favorable, n'est pas exponentiel comme dans le cas des bactéries mais plutôt cubique. Cette caractéristique est aussi celle d'un grand nombre de champignons.

2.2.1. Distribution et abondance

Les actinomycètes sont présents un peu partout dans la nature, venant après les bactéries dans l'ordre d'abondance des micro-organismes. Ils représentent la principale portion de la population microbienne normale des sols et des boues des lacs et des rivières. Dans les endroits alcalins et secs, leur population peut être spectaculaire. Il est noté que les actinomycètes représentent 95 % des organismes dans certaines localités de l'atoll de Bikini, dans l'océan Pacifique, en raison probablement de l'alcalinité du sol.

Les actinomycètes sont plus encouragés par les milieux secs qu'humides. Leur nombre est plus élevé dans les champs et paturages que dans les sols cultivés. Ils sont défavorisés par un milieu dont le pH est inférieur à 5,0. Les sols des régions de climat chaud sont plus favorables à la croissance et à la reproduction des actinomycètes que ceux des régions de climat plus froid.

2.2.2. Classification

Trois genres seulement d'actinomycètes (*Streptomyces*, *Nocardia* et *Micromonospora*) sont de nature à inclure des espèces susceptibles de jouer un rôle dans les problèmes associés à l'approvisionnement en eau.

2.2.3. Influence de l'environnement édaphique

La plupart des actinomycètes du sol sont aérobies. Ils peuvent utiliser le carbone à partir de molécules simples ou complexes telles que : acides organiques, sucres, polysaccharides, lipides, protéides et hydrocarbures aliphatiques. Plusieurs espèces décomposent la cellulose, plusieurs autres dégradent l'amidon, l'inuline, la chitine et la

lignine. L' NH^{4+} , les NO^{3-} , les acides aminés, les peptones et un certain nombre de protéines sont utilisés comme source d'azote.

Les principaux facteurs qui influencent la croissance et la multiplication des actinomycètes sont l'état de la matière organique, le pH, l'humidité et la température. Les actinomycètes sont influencés directement par la présence de carbone et leur nombre est élevé dans les sols riches en matière organique. Lorsqu'on ajoute de la matière organique riche en azote (résidus divers, fumiers, etc.) les bactéries et les champignons sont, en général, les premiers à intervenir. Ce n'est qu'à un stade plus avancé de dégradation de la matière organique que les actinomycètes interviennent. Les actinomycètes sont en quantité négligeable lorsque le pH est inférieur à 5,0. L'intervalle de pH le plus favorable à leur prolifération dans le sol est de 6,5 à 8,0. Préférant un sol peu humide, ils ont une plage optimale de température qui se situe, en général, entre 28 et 37°C. Certaines espèces sont des thermophiles facultatifs croissant entre 55 et 65°C. Leur croissance est presque nulle pour des températures inférieures à 5°C et supérieures à 39°C.

2.3. LES CHAMPIGNONS

Les champignons comprennent les levures et les moisissures. Les levures sont des champignons unicellulaires. Leur multiplication est rapide dans un milieu riche en sucre ou amidon, et elles peuvent croître à des pH voisins de 4,0. Dans les climats tempérés, on trouve en général approximativement 1000 levures par gramme de sol. Les moisissures croissent à partir d'une graine qui pousse, s'étire en longs filaments, les hyphes, dont la masse finale est connue sous le nom de mycélium.

2.3.1. Distribution et abondance

L'estimation de la densité des champignons dans le sol, à l'aide de techniques de laboratoire, varie entre 10 000 et 1 000 000 unités (spores, hyphes ou fragment d'hyphes) par gramme de sol. Les bactéries, on l'a vu, sont plus abondantes dans le sol que les champignons. Dans la plupart des sols cultivés et bien aérés, les champignons représentent cependant la plus grande partie du protoplasme microbien total. La biomasse des microchampignons est comprise entre 100 et 1000 kg/ha.

2.3.2. Classification

- *Classe des Ascomycetes*

On range dans cette classe les levures, certaines rouilles et la moisissure rose du pain. Certaines espèces sont, au contraire, utiles à l'homme, notamment les levures qui provoquent la fermentation, et les moisissures qui produisent les antibiotiques.

- *Classe des Basidiomycetes*

Cette classe groupe les champignons supérieurs, comestibles ou non, dont l'organe de fructification est composé d'un pied ou d'un chapeau. Certains de ces champignons provoquent les maladies des végétaux, fatales aux récoltes. Les basidiomycètes favorisent la décomposition de la matière organique.

- *Classe des Deuteromycetes*

Les deutéromycètes, aussi connus sous le nom de champignons imparfaits, constituent une classe provisoire. On classe dans ce groupe toutes les espèces où il n'a pas encore été possible de déterminer l'existence d'un stade sexuel de reproduction.

- *Groupe des Phycomycetes*

Les phycomycètes regroupent des champignons inférieurs qui croissent en multipliant leurs filaments ou hyphes. Leurs cellules sont entourées d'enveloppes. Ils parasitent souvent les végétaux ou les animaux, certains attaquant les algues et même les protozoaires. C'est un phycomycète qui, en détruisant les pommes de terre au XIX^e siècle, plongea dans la famine la population de l'Irlande. Plusieurs sont groupés sous le nom de phycomycètes terrestres.

2.3.3. Influence de l'environnement édaphique

Les genres le plus fréquemment observés dans le sol sont les suivants : *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Aspergillus*. La microflore des champignons apparaît aujourd'hui comme étant beaucoup plus variée que ne le laissaient entendre les études d'il y a quelques années. Les facteurs externes qui influencent la croissance et la multiplication des champignons dans le sol sont l'état de la matière organique, le pH, l'humidité, la température, les saisons, l'aération, les fertilisants organiques et inorganiques, etc. Les champignons sont hétérotrophes, ce qui signifie que ni la lumière solaire ni l'oxydation des substances inorganiques ne peuvent leur fournir l'énergie nécessaire à leur croissance. Ils ont donc besoin de substrats organiques oxydables. Les bactéries et les actinomycètes ne sont en général pas favorisés par un milieu acide. La population des champignons, en revanche, domine dans les endroits à pH faible. Plusieurs champignons peuvent croître à des pH très acides, de l'ordre de 2,0 à 3,0, et aussi à des pH très alcalins pouvant atteindre 9,0 ou davantage. L'usage de fertilisants à base de sels d'ammonium augmente la population des champignons parce que l'oxydation microbienne de l'azote entraîne la formation d'acide nitrique qui abaisse le pH. L'augmentation de l'humidité du sol favorise la croissance des champignons, mais une humidité excessive empêche la diffusion de l'oxygène moléculaire nécessaire au métabolisme aérobie des champignons. Certaines espèces prolifèrent en présence d'un excès d'humidité. En ce qui concerne la température, si la plupart des champignons sont mésophiles, il existe cependant quelques espèces thermophiles ; ces dernières se multiplient à 50°C mais non à 65°C.

2.4. LES ALGUES

2.4.1. Distribution et abondance

Les algues ne sont jamais aussi nombreuses dans le sol que les bactéries, les actinomycètes ou les champignons. Elles sont présentes en grand nombre là où la lumière accède et où l'humidité est adéquate. Les techniques de dénombrement ont permis de déceler de 100 à 10 000 cellules d'algues vivantes par gramme de sol à partir d'échantillons prélevés immédiatement sous la surface d'un sol composé de terre arable. Exceptionnellement, on a pu trouver dans certains sols jusqu'à 50 000 de ces cellules par gramme de sol.

2.4.2. Influence de l'environnement édaphique

C'est en raison du besoin de lumière solaire que l'on trouve les algues surtout dans les 5 à 10 premiers centimètres du sol ; en dessous, la population d'algues diminue rapidement avec la profondeur. Les principaux facteurs qui influencent la flore des algues sont l'humidité et le pH. Les *Chlorophyceae* (algues vertes) et les *Cyanophyceae* (algues bleues) sont moins sensibles à la sécheresse que les diatomées.

Les fleurs d'eau se produisent surtout en saison fraîche, humide, durant laquelle l'intensité lumineuse n'est pas nécessairement à son maximum.

Chaque espèce d'algues possède un pH optimal de croissance. Les *Cyanophyceae* (algues bleues) se trouvent dans les sols neutres ou alcalins ; on ne les trouve pas dans les sols dont le pH est inférieur à 5, et quelques-unes seulement sont présentes dans les sols dont le pH se situe entre 5 et 6. Les diatomées fréquentent peu les sols acides, mais elles sont nombreuses dans les sols calcaires. Les *Chlorophyceae* (algues vertes) sont moins limitées par le pH, et elles dominent dans la flore d'algues des lieux acides, du fait de l'absence d'autres formes.

3. Les cycles biogéochimiques

3.1. Généralités

Dans les cycles biogéochimiques, le rôle des micro-organismes est mal distingué des processus physicochimiques. Les formes sous lesquelles les éléments sont disponibles (organominérales ou minérales) et sont mobilisés et recyclés sont à préciser, ainsi que les paramètres majeurs impliqués (végétation, roche mère, état hydrique du sol. . .).

Le rôle majeur des micro-organismes dans les étapes fondamentales du cycle de divers éléments Les micro-organismes du sol, des eaux, des sédiments, des océans (bactéries et champignons) interviennent comme agents principaux du fonctionnement du cycle biogéochimique de divers éléments majeurs et en traces (carbone, azote, soufre, phosphore, fer, mercure, sélénium, arsenic, . . .).

Il paraît nécessaire de rappeler, en complément des présentations faites dans la première partie de ce rapport et avec une approche géomicrobiologique et fonctionnelle, l'implication des micro-organismes dans le fonctionnement du cycle de certains éléments et d'indiquer seulement leur intervention plus ou moins significative dans d'autres.

3.2. Cycle de carbone

Tout d'abord pour le cycle du carbone, cycle clé du fonctionnement de l'écosystème terrestre, ils assurent des fonctions essentielles en tant que décomposeurs (biotransformation-biodégradation-minéralisation des matières organiques), mais aussi de producteurs de matières organiques (biomasse, composés humiques) et de diverses substances d'intérêt pour le fonctionnement des écosystèmes ou pour des applications industrielles, pharmaceutiques (par exemple, production d'antibiotiques, de vitamines, de surfactants. . .). On peut distinguer d'un point de vue d'écologie fonctionnelle globale, des phases et boucles aérobies et anaérobies de fixation (réduction du CO₂ et production de matières organiques) et de minéralisation (biodégradation et production de CO₂) du cycle de carbone. Un cycle concernant le méthane (méthanogenèse, méthanotrophie) peut être distingué.

une première étape qui conduit de l'azote organique à l'ammonium, l'ensemble ou une très grande partie des communautés bactériennes hétérotrophes aérobies et anaérobies et fongiques. Dans une seconde étape, la production de nitrate (oxydation de NH_4 en NO_3^-) n'implique que des bactéries très spécialisées et concerne pour une grande part des populations bactériennes autotrophes (chimolithotrophes) aérobies. – L'immobilisation de l'azote, en fait l'absorption de NO_3 ou NH_4 pour des besoins nutritionnels, concerne pratiquement l'ensemble des microorganismes dans diverses conditions de milieux aérobies ou anaérobies. – La dénitrification (dite aussi « dénitrification dissimilative ») est une respiration anaérobie qui fait intervenir des populations bactériennes, surtout hétérotrophes (chimio-organotrophes), mais aussi autotrophes (chimolithotrophes) (par exemple, *Thiobacillus denitrificans*) qui, en conditions anoxiques, assurent la production d'oxydes d'azote et en particulier N_2O , d'azote moléculaire N_2 , mais aussi NH_3 . Récemment, on a observé que des organismes non définis, présents dans des eaux usées ou des boues d'épuration, peuvent, en conditions anaérobies, oxyder NH_4^+ en azote moléculaire. Cette réaction désignée par anamox (anoxic ammonia oxidation) est exergonique et n'est pas associée à des activités métaboliques des bactéries nitrifiantes en conditions anaérobies. Toujours est-il qu'elle démontre, contrairement à ce qui semblait bien établi (!) que l'ammonium n'est pas stable en conditions anaérobies et qu'il peut être oxydé par des bactéries autres que les bactéries nitrifiantes.

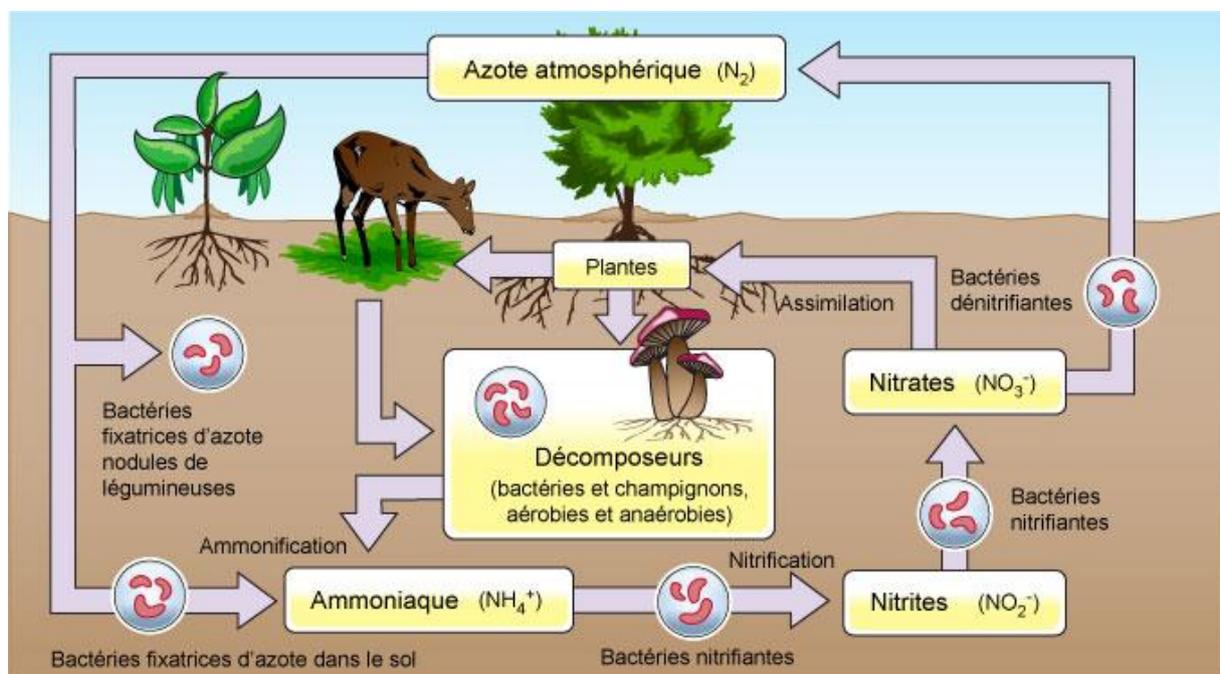


Figure 2 : Le cycle d'azote

On constate que chaque grande étape du cycle de l'azote présente des spécificités de communautés et populations microbiennes et de conditions de milieux plus ou moins particulières et que des couplages avec le cycle du carbone se manifestent pour :

- L'ammonification (minéralisation des matières organiques) ;
- La nitrification (fixation de CO_2 en autotrophie) ;
- La fixation d'azote ;
- La dénitrification hétérotrophe associées à la biodégradation et minéralisation de composés organiques source de carbone et d'énergie. Comme on le constate pour d'autres types de processus microbiens et d'autres cycles (cycle du soufre ou du fer), un même processus peut avoir pour la production végétale, la qualité des sols, des eaux, de l'air. . . , des effets ou applications bénéfiques ou utiles ou au contraire des effets délétères ou nuisibles. Ainsi, la nitrification, essentielle au fonctionnement du cycle de l'azote et à la production d'azote assimilable pour les végétaux et les micro-organismes est aussi impliquée dans l'acidification des eaux, la contamination des nappes, la dissolution d'aluminium sous formes ioniques toxiques pour la faune aquatique, les végétaux. . . La dénitrification, autre processus essentiel du cycle de l'azote, étape fondamentale du retour de l'azote moléculaire N_2 vers l'atmosphère, processus d'épuration d'eaux contaminées par les nitrates, est aussi à l'origine des pertes de fertilisants azotés et de production de gaz à effet de serre (N_2O). Si ce cycle de l'azote paraît aussi relativement bien connu, il n'en reste pas moins d'un point de vue fondamental que les communautés microbiennes et en particulier bactériennes impliquées, leur dynamique, les paramètres qui contrôlent leur activité (disponibilité des sources de carbone et d'énergie, état hydrique du sol. . .) sont encore à préciser, voire à déterminer. Les applications et impacts concernent la production de gaz à effet de serre, les pratiques culturales et la production végétale, la qualité et le traitement des eaux. Le développement des connaissances fondamentales et des applications nécessite aussi l'utilisation de modèles.

3.4. Cycle de soufre

Les transformations du soufre sont plus complexes que celles de l'azote en raison du plus grand nombre d'états d'oxydation. Trois formes paraissent dominantes dans les milieux naturels : sulfhydryl, R-SH et sulfure $\text{HS}^{-(-2)}$; soufre élémentaire, $\text{S}_0(0)$; sulfate (SO_4^{2-})⁽⁺⁶⁾. Certaines transformations comme l'oxydation des sulfures en conditions aérobies et pH neutre, impliquent tout autant les réactions chimiques que biologiques. Mais on distingue des grandes étapes où l'intervention des micro-organismes est fondamentale. Pratiquement, l'ensemble des communautés microbiennes sont impliquées dans les processus de minéralisation aérobie et anaérobie qui conduisent essentiellement aux sulfates et sulfures. En conditions aérobies, acides ou neutres, des

bactéries chimiolithotrophes oxydant, comme source d'énergie, les sulfures, le soufre élémentaire, le thiosulfate, le sulfite (*Sulfolobus*, *Thiobacillus*. . .) en utilisant O_2 comme accepteur d'électrons pour assurer la fixation autotrophe du CO_2 . Quelques espèces (*Th. denitrificans*) peuvent aussi croître en anaérobiose en utilisant les nitrates comme accepteur d'électrons. En conditions anaérobies strictes, les bactéries sulfatoréductrices utilisent les sulfates comme accepteur d'électrons (respiration anaérobie) pour le réduire en sulfure (H_2S). On désigne aussi ce processus par le terme « réduction dissimilative des sulfates ». Elle contribue au fractionnement isotopique très significatif du soufre, l'isotope léger étant préférentiellement utilisé. Les donneurs d'électrons peuvent être pour ces bactéries sulfatoréductrices des composés organiques variés, mais aussi l'hydrogène (comme pour *Desulfovibrio desulfuricans*). On distingue par ailleurs une sulfatoréduction microbienne assimilative qui, par réduction des sulfates en H_2S , conduit à la production de composés organiques soufrés (par exemple, cystéine, méthionine, . . .) que mettent en œuvre de très nombreux micro-organismes pour leur nutrition et non pas pour leur respiration. Ces deux grands types de processus, sulfo-oxydation et sulfatoréduction (dissimilative) bactériennes, ont des incidences et applications majeures et multiples.

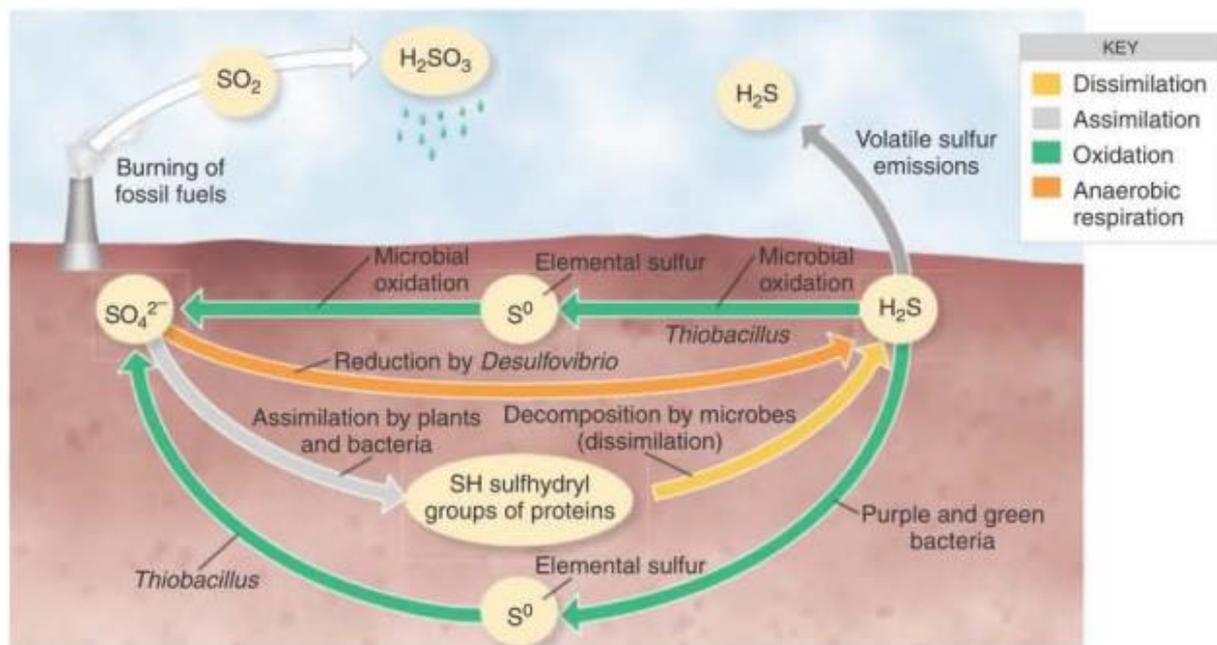


Figure 3 : Le cycle de soufre

Outre l'implication directe sur le cycle du soufre, la sulfo-oxydation bactérienne intervient par l'oxydation-dissolution des sulfures sur l'acidification des eaux, des sols, la solubilisation et lixiviation (extraction par voie soluble) des métaux, la corrosion

des bâtiments, . . . La sulfatoréduction participe aux dépôts de sulfures métalliques et la formation de gisements, et est appliquée à l'épuration des eaux contaminées pour éliminer les métaux. Elle peut entraîner des effets toxiques (H_2S) vis-à-vis des végétaux. . . Les différents processus microbiens du cycle du soufre assurent des couplages biologiques entre cycle du carbone, du soufre et du fer et même de l'azote (*Th. denitrificans*) et des couplages chimiques avec les réactions de changement d'état « solubilisation-dépôt » de nombreux métaux (cuivre, plomb, nickel, uranium, . . .). On note aussi des analogies de conditions physicochimiques et biochimiques entre certaines étapes du cycle du soufre et de l'azote (par exemple sulfo-oxydation et nitrification qui dépendent de bactéries autotrophes et aérobies ; dénitrification et sulfatoréduction qui font intervenir des bactéries hétérotrophes et anaérobies).

3.5. Cycle de phosphore

Les transformations du phosphore font intervenir deux grands types de processus microbiens. L'un relativement spécifique met en œuvre des systèmes enzymatiques phosphatases qui hydrolysent les liaisons esters organiques phosphorés pour produire des phosphates minéraux assimilables par les micro-organismes et les végétaux. Dans les sols et les sédiments, tant le pool « phosphates organiques » que les diverses phosphatases et micro-organismes impliqués sont très mal connus. L'autre principal type de processus fait intervenir, tant dans la rhizosphère que hors rhizosphère, des bactéries et champignons produisant des acides minéraux et organiques plus ou moins complexants. Ces acides excrétés dans le milieu, par échange entre protons des acides avec les cations des phosphates minéraux insolubles, libèrent des anions phosphates minéraux assimilables. C'est en fait un phénomène général d'altération microbienne des minéraux (Berthelin, 1988). Outre l'assimilation du phosphore pour la croissance, certaines bactéries qualifiées de PAO (Phosphorus Accumulating Organism) peuvent stocker dans leur compartiment cytoplasmique le phosphore sous forme de granules de polyphosphates, au-delà de leur strict besoin métabolique. Cette propriété est utilisée en épuration des eaux pour favoriser un traitement biologique du phosphore plutôt qu'un traitement par précipitation chimique, qui entraîne une augmentation du volume des boues à traiter. Cette suraccumulation du phosphore dans la cellule est régie par un métabolisme spécifique:

- En condition anaérobie l'assimilation des acides gras volatils (issus de la fermentation de la matière organique) permet la synthèse de polyhydroxyalcanoates (PHA) en utilisant l'énergie libérée par l'hydrolyse des polyphosphates ;
- En condition aérobie, l'hydrolyse des PHA fournit de l'énergie permettant une régénération des granules de polyphosphates, supérieure à l'hydrolyse observée

en phase anaérobie. Ce modèle métabolique reste à ce jour à confirmer. Les espèces impliquées ne sont que partiellement identifiées (β protéobactéries – *Rhodocyclus spp.*. À noter également que certaines bactéries appelées PAO dénitrifiantes (DPAO) peuvent utiliser le nitrate comme accepteur d'électrons.

3.6. Cycle de fer

La mobilité du fer déterminée par le pH, le Eh et la présence de ligands organiques, est sous la dépendance des activités microbiennes qui modifient et contrôlent en permanence ces paramètres. En milieu acide ou neutre, aérobie ou micro-aérophile, des bactéries autotrophes (chimolithotrophes) ou mixotrophes oxydent FeII en FeIII pour obtenir l'énergie nécessaire à leur croissance. Elles utilisent pour la plupart le CO₂ comme source de carbone, certaines peuvent aussi oxyder les formes réduites du soufre et d'autres éléments (U, As, . . .). Ces processus conduisent, sauf en conditions très acides ou complexantes, à la précipitation d'oxydes de fer sensu lato, de sulfates ou de phosphates. Ces bactéries trouvent des applications dans la lixiviation et l'extraction des métaux de minerais sulfurés, de matériaux pollués ou le traitement des eaux pour éliminer le fer, le manganèse et divers métaux qui peuvent s'y associer. D'autres communautés bactériennes aéro-anaérobies ou anaérobies, la plupart du temps hétérotrophes (chimio-organotrophes) utilisent FeIII comme accepteur d'électron pour leur respiration, en parallèle ou en complément de fermentations. Elles réduisent le fer en solution, mais entraînent aussi la dissolution et l'altération des oxydes et oxyhydroxydes. Le fer est alors mobilisé et disponible sous forme de FeII et ne restera soluble qu'en conditions réductrices. Ce phénomène se produit en sol saturé, mais aussi quand la consommation d'oxygène entraîne l'anoxie. Ces bactéries se manifestent dans de nombreux sols sous conditions climatiques variées (tropicales humides, tempérées, montagnardes. . .). De tels phénomènes d'altération bactériennes des oxydes ferriques entraînent aussi une redistribution des métaux associés à ces oxydes vers des phases plus disponibles (hydrosolubles, échangeables, . . .). Par ailleurs, des champignons (mycorrhizogène ou saprophytes) et des bactéries, rhizosphériques ou non, produisent des substances complexantes du fer (acides aliphatiques carboxyliques, acides phénols, acides hydroxamiques, . . .) qui contribuent à l'altération de minéraux (ferromagnésiens, oxydes. . .) donc à la solubilisation d'éléments minéraux qui sont alors transférés plus abondamment aux solutions et aux végétaux. Certains de ces composés, les sidérophores présentent une capacité complexante spécifique de FeIII.

Ces processus sont donc susceptibles de contrôler les dissolutions et néoformations de minéraux et modifient la disponibilité du fer et d'éléments associés dans les sols. Ils peuvent avoir des effets bénéfiques ou nocifs, directs ou indirects dans le fonctionnement des systèmes sols-plantes et se manifestent dans de nombreux couplages de cycles (avec carbone, soufre, phosphore, ou d'éléments en traces comme uranium,

sélénium, arsenic). La connaissance des structures et fonctions des communautés microbiennes impliquées et des paramètres du milieu qui les contrôlent ainsi que les couplages entre cycles est encore bien insuffisante.

4. Les couplages de cycles

Les couplages du cycle du carbone avec les autres cycles (azote, soufre, phosphore, fer, . . .), sont connus ou relativement bien connus d'un point de vue des mécanismes microbiens impliqués, mais sont loin d'être définis du point de vue de l'écologie fonctionnelle. Les paramètres biotiques (nature, dynamique, activité des populations impliquées) et abiotiques (paramètres physiques et chimiques du milieu) de régulation sont à mieux définir.

Les couplages les plus simples concernant majoritairement deux cycles biogéochimiques correspondent essentiellement :

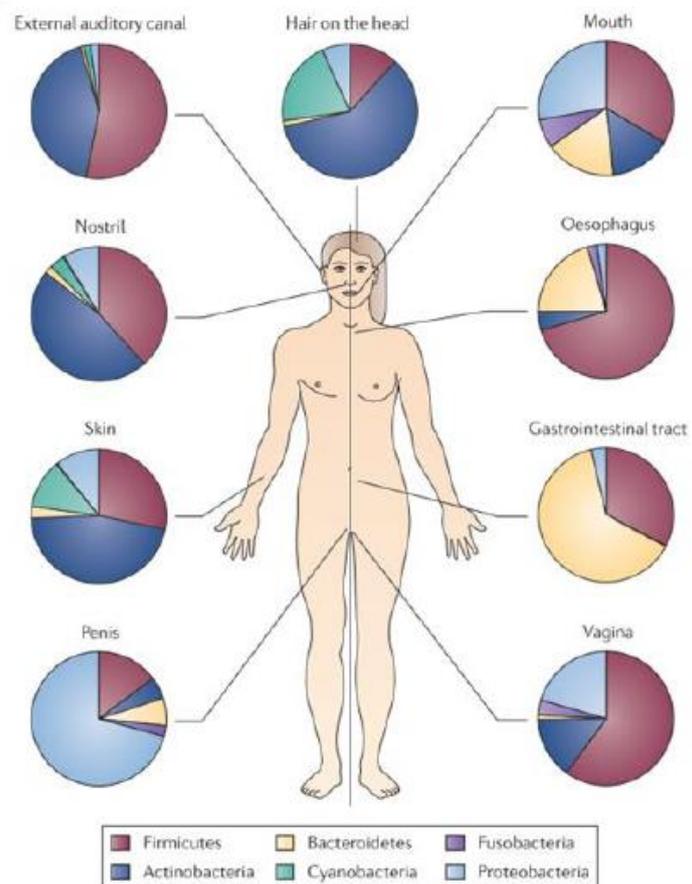
- à des phases de minéralisation des matières organiques impliquant carbone, phosphore, azote, soufre. . ., où la nature des composés organiques, leur disponibilité et biodégradabilité, les paramètres de régulation sont à préciser : par exemple, comment se développe et est contrôlée la minéralisation de l'azote ou du phosphore sous divers peuplements forestiers ?
- à des processus d'oxydation de substrats minéraux et de fixation de CO₂ et qui concernent la nitrification, la sulfo-oxydation, l'oxydation du fer par des bactéries autotrophes ;
- à des processus de réduction comme la dénitrification, la réduction du fer, la sulfatoréduction dont la mise en œuvre et la régulation sont à bien déterminer. Ces couplages biologiques peuvent concerner plusieurs cycles comme par exemple, C, S et Fe au cours de l'oxydation-altération-dissolution des minéraux sulfurés par *Thiobacillus ferrooxidans* ou C, S, N pour la bactérie *Thiobacillus denitrificans* avec des implications fortes dans le fonctionnement des milieux naturels ou dans des applications au traitement de minerais ou à la pollution et au traitement des eaux. En fait, il est absolument nécessaire de considérer les diverses étapes des cycles biogéochimiques, non seulement par élément mais aussi par association de cycles ou d'étapes de cycles, pour établir une approche fonctionnelle.

La microbiologie du tube digestif humain

1. Le microbiote intestinal

On identifie chez l'homme de nombreux sites colonisés de façon continue par des microbes. La nature et la densité des microbes, ou symbiotes, qui peuplent chacun de ces sites sont variables, et l'on regroupe sous le terme de microbiote l'ensemble des populations qui colonisent un site. La plus dense des populations bactériennes qui nous habitent se trouve au niveau intestinal. Le corps humain héberge de vastes communautés microbiennes à majorité bactérienne dont la composition en grands groupes bactériens, ou phyla, varie d'un site à l'autre (Figure 1). Ces différentes populations bactériennes, ou microbiotes, dépassent très largement en nombre les cellules eucaryotes. En effet, les cellules procaryotes représentent 90% de toutes les cellules qui nous constituent. Le site le plus densément peuplé est l'intestin avec plus de 10^{14} bactéries par gramme de contenu luminal dans le côlon.

Figure 1 : Proportions relatives des six phyla bactériens dominants de différents sites anatomiques chez l'homme



Principale interface entre notre milieu intérieur et l'environnement, l'intestin exerce deux fonctions majeures, l'absorption et la digestion des nutriments, et le maintien d'une barrière protectrice contre le milieu extérieur.

1.1. Acquisition des communautés bactériennes intestinales

La notion de stérilité de l'intestin *in utero* est principalement née du fait de l'absence de bactérie détectée dans le liquide amniotique, environnement extérieur du fœtus, en condition physiologique, par les techniques de culture bactérienne et de coloration de Gram. Depuis le développement de nouvelles méthodes de quantification bactérienne à plus forte résolution, cette notion est controversée. En effet, la détection de bactéries pionnières, premières espèces à coloniser l'intestin, dans le sang de cordon ombilical, et de bactéries lactiques, dans le méconium d'enfants sains, nés par césarienne, suggère qu'à terme, l'intestin du fœtus serait déjà colonisé, potentiellement par passage transplacentaire des bactéries intestinales maternelles. Cependant, le peu d'études cliniques menées et la faible quantité de bactéries détectée, ne permettent pas de conclure quant à cette présence microbienne *in utero* et à son impact physiologique.

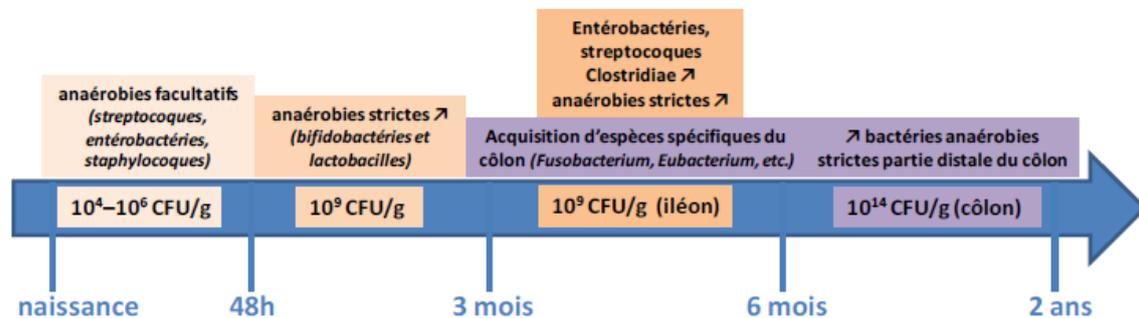


Figure 2 : Schéma d'acquisition des populations bactériennes intestinales chez l'enfant

L'établissement et la diversification du microbiote intestinal s'effectue par palier avec une alternance de phases relativement stables des communautés microbiennes ponctuées par des changements brutaux. Les premières bactéries à s'implanter dans le tube digestif du nourrisson sont des espèces aéro-tolérantes, l'intestin étant à la naissance un milieu pourvu en oxygène. Ces bactéries pionnières anaérobies facultatives sont principalement des entérobactéries, parmi lesquelles figure *Escherichia coli*, mais aussi des streptocoques et des staphylocoques. Après quelques jours, le milieu intestinal va se réduire en oxygène et sous l'influence de l'allaitement, lactobacilles et bifidobactéries, bactéries anaérobies strictes, vont s'implanter et devenir majoritaires.

Le passage à une alimentation solide vers l'âge de six mois, représente le facteur principal de diversification du microbiote, favorisant le développement des entérobactéries, des streptocoques et des *Clostridia*. A ce stade, des espèces spécifiques du côlon, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, s'établissent. Les bifidobactéries qui s'implantent dès les premiers jours qui suivent la naissance prédominent jusqu'à la fin de la première année, diminuant progressivement en nombre avec la diversification de l'alimentation.

Les mécanismes qui contrôlent la forte dynamique du microbiote intestinal pendant ces deux premières années de vie ne sont pas déterminés. Ils pourraient impliquer le virome de l'hôte, constitué par l'ensemble des virus qui le colonisent, et notamment des bactériophages capables d'infecter spécifiquement les bactéries.

Vers l'âge de deux ans chez l'enfant, un équilibre des populations bactériennes intestinales est atteint, avec une biodiversité phylogénétique et fonctionnelle voisine de celle de l'adulte.

Cette diversité est alors caractérisée, à l'inverse du microbiote en cours d'établissement, par une plus forte proportion d'espèces anaérobies, notamment de *Firmicutes*, et d'une plus faible proportion de bactéries anaérobies facultatives, ces dernières s'établissant en sous-dominance chez l'adulte avec *E. coli* comme espèce majoritaire.

La mise en place du microbiote intestinal semble suivre un schéma caractéristique des écosystèmes complexes se stabilisant au fur et à mesure qu'il se diversifie.

1.2. Diversité du microbiote intestinal

Dix à cent fois plus nombreuses que les cellules de notre corps, les bactéries intestinales ont une masse totale de l'ordre du kilogramme. Leur densité suit un gradient oroanal avec une richesse microbienne maximale observée dans le côlon distal (Figure 3).

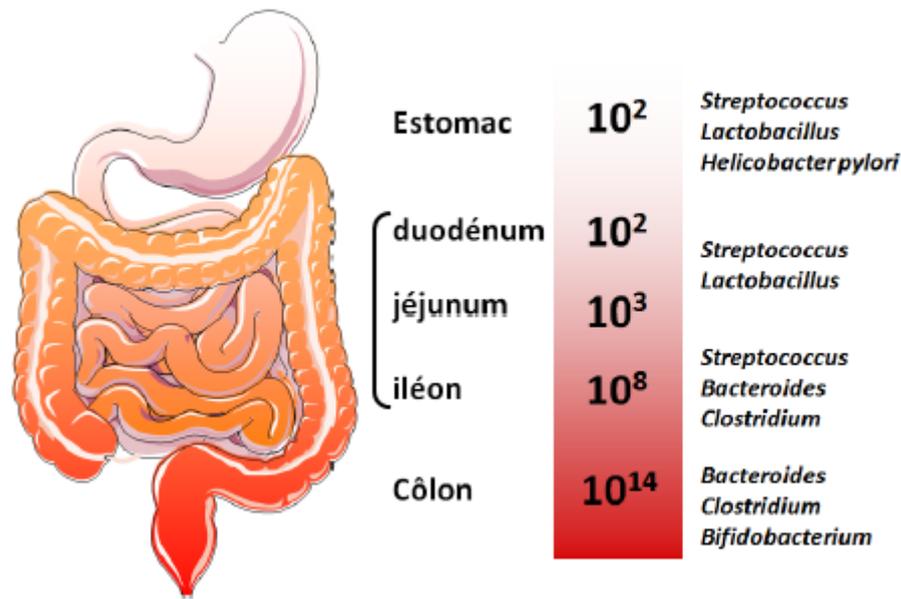


Figure 3 : Composition et concentration des espèces bactériennes lumineales dominantes du microbiote intestinal le long du tractus digestif

A ce jour seulement 20 à 30% des bactéries du tractus digestif sont cultivables par les méthodes classiques de culture anaérobie et notre connaissance actuelle de la biodiversité du microbiote intestinal humain repose en grande partie sur l'évolution des techniques de biologie moléculaire réalisée depuis la fin du XXe siècle (Suau *et al.*, 1999) (Brugere *et al.*, 2009) (Fraher *et al.*, 2012). Ces techniques, basées sur la comparaison des séquences des gènes de l'ARN de la petite sous-unité du ribosome (ARNr 16S), gènes hautement conservés chez les procaryotes, permettent l'étude qualitative et/ou quantitative de la diversité bactérienne.

L'analyse comparative des séquences des gènes de l'ARNr 16S issues de microbiotes humains fécaux adultes, a pu montrer que plus de 1000 espèces bactériennes, en très grande majorité anaérobies, composent cet écosystème.

1.3. Facteurs influençant la composition et la stabilité du microbiote intestinal

La génétique de l'hôte et sa physiologie, mais aussi et surtout de nombreux facteurs environnementaux tels que le mode de naissance, l'hygiène et l'alimentation, ont un rôle majeur dans l'établissement et la stabilité du microbiote intestinal (Figure 4).

1.3.1. La génétique de l'hôte

L'analyse de l'impact de la génétique de l'hôte sur la mise en place des communautés bactériennes a été menée dans de nombreuses études réalisées chez des jumeaux, concluant à une plus forte proximité des profils bactériens dominants chez les jumeaux. Cependant, de récents travaux comparant les microbiotes fécaux de trois cohortes de jumeaux mono- et dizygotes, incluant une centaine de familles de diverses origines géographiques, semblent remettre en cause ces conclusions.

1.3.2. L'environnement de l'hôte

Les premiers contacts de l'enfant avec son environnement extérieur à la naissance semblent influencer la nature des bactéries capables de rapidement coloniser le tractus digestif. Des travaux comparant les selles d'enfants dans les premiers jours de vie montrent que celles d'enfants nés par césarienne contiennent moins de bifidobactéries que celles d'enfants nés par voie basse. La naissance par voie basse semble favoriser la colonisation par les espèces identifiées dans la muqueuse vaginale de la mère (*Lactobacillus*, *Prevotella*, *Sneathia*) alors que l'accouchement par césarienne favorise plutôt une colonisation précoce par les bactéries présentes sur la peau maternelle (*Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*). Des études épidémiologiques suggèrent que des perturbations dans la mise en place du microbiote intestinal et notamment l'influence du mode de naissance, affectent la santé de l'hôte à plus long terme. Un autre facteur pouvant perturber l'établissement du microbiote intestinal aux temps précoces est l'hygiène. La théorie "hygiéniste" qui s'est développée dans les années 1990, suggère qu'une faible exposition à des agents infectieux durant l'enfance favoriserait l'émergence des maladies atopiques par défaut de mise en place des mécanismes de régulation du système immunitaire (Strachan, 1989). Une nouvelle hypothèse revisitant cette théorie suggère que l'évolution des modes de vie, notamment l'antibiothérapie et la chloration de l'eau potable, aurait occasionné la perte, au sein de notre microbiote intestinal.

Un dernier facteur environnemental qui semble particulièrement influencer l'établissement et la stabilité des espèces bactériennes est l'alimentation. Chez l'adulte, l'entérotype, genre bactérien dominant du microbiote fécal, semble être associé au régime alimentaire suivi à long terme. Bien qu'un changement de régime alimentaire à court terme influence dès les premières vingt quatre heures certains taxons bactériens, l'entérotype de l'individu n'est pas modifié.

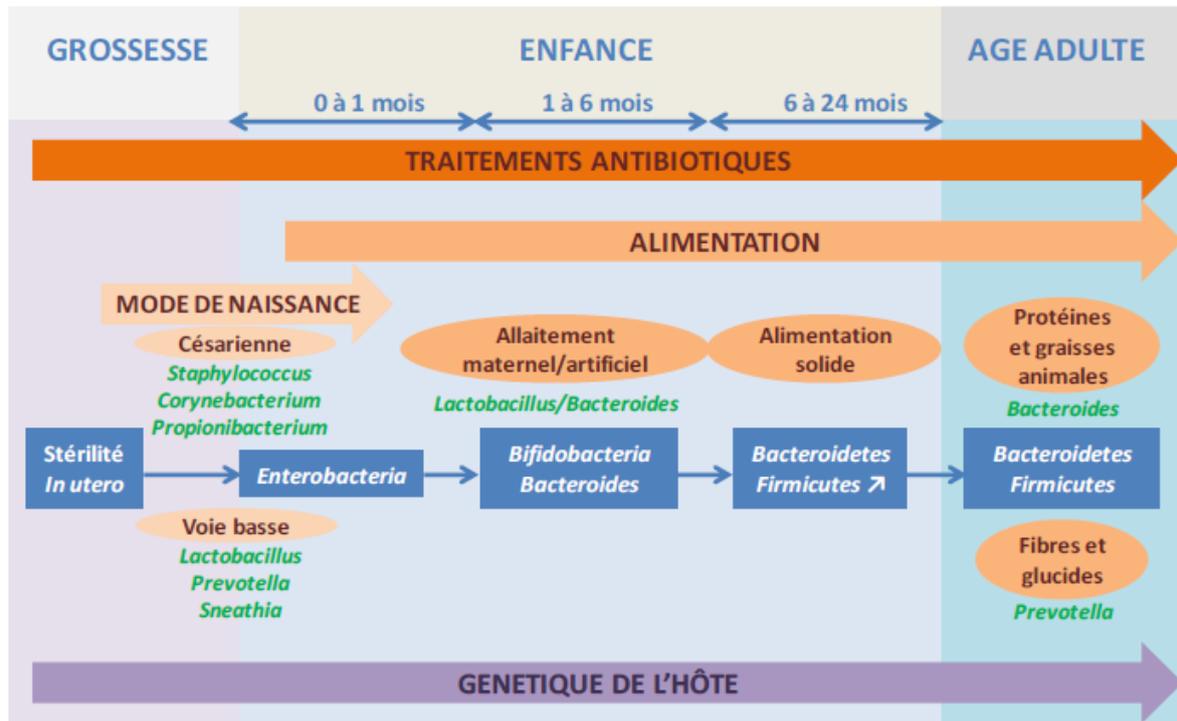


Figure 4 : Facteurs influençant l'établissement et la stabilité du microbiote intestinal

La stabilité du microbiote intestinal dépend de l'interaction entre la génétique de l'hôte et les facteurs environnementaux.

Contamination et hygiène des locaux

1. Source de contamination

Les réservoirs microbiens sont classiquement distingués en réservoirs vivants, c'est-à-dire les personnes présentes dans le local, et en réservoirs environnementaux. Dans ces milieux de l'environnement, on retrouve les micro-organismes saprophytes, bactéries et champignons microscopiques, qui sont très résistants dans le milieu extérieur, et certains germes pathogènes ou commensaux d'origine humaine qui survivent bien en dehors de leur organisme-hôte.

Les milieux secs comme les poussières et les supports inertes agglomèrent ou fixent les micro-organismes. Ceux-ci sont composés de bactéries à Gram positif (*Bacillus sp.*, staphylocoques, entérocoques, actinomycètes...), de bactéries à Gram négatif telles qu'*Acinetobacter sp.*, de spores de bactéries anaérobies à Gram positif et de champignons microscopiques.

Les milieux humides favorisent la survie des micro-organismes : bactéries à Gram négatif comme les entérobactéries ou les pseudomonas et espèces apparentées, *Legionella sp.*, mycobactéries atypiques, champignons microscopiques, virus tels que les entérovirus ou le virus de l'hépatite A.

Tandis que les sources de contamination microbienne des eaux sont multiples. Il s'agit en premier lieu des rejets d'eaux usées domestiques. Ces eaux polluées issues des activités humaines, souvent non traitées, contiennent de nombreux virus et bactéries. Les rejets des stations d'épuration, suivant l'efficacité du traitement effectué, peuvent eux-aussi contenir des micro-organismes. Les décharges sont aussi un site privilégié de développement de microbes qui, entraînés par les eaux pluviales, se retrouvent ensuite dans les milieux naturels.

En outre, les contaminations microbiennes sont également causées par les rejets agricoles et aquacoles. Les animaux d'élevage quant à eux hébergent une quantité importante de bactéries, de virus et de parasites qu'ils évacuent avec leurs excréments. Ces microbes sont ensuite emportés par les eaux de pluie, depuis les rivières.

2. Hygiène de l'environnement

S'il est relativement aisé de poser les bonnes indications et de définir les bons procédés en matière de stérilisation p.ex., les limites des exigences deviennent plus floues au fur et à mesure où on s'écarte de cet absolu : c'est le cas typique du nettoyage général de l'hôpital appelé communément "entretien ménager".

Certaines études suggèrent qu'il pourrait ne pas y avoir de différence significative du taux d'infections nosocomiales dans des services entretenus avec un détergent seul par rapport à ceux nettoyés au moyen d'un détergent désinfectant.

Par ailleurs, en dehors des salles d'opération et des zones à haut risque, ainsi que des chambres d'isolement septique ou locaux hébergeant des malades infectés ou colonisés par des germes particulièrement virulents et résistants tels les MRSA et *Clostridium difficile*, on ne peut pas, de manière évidente, démontrer que l'environnement général (surfaces) soit une source importante d'infections hospitalières.

Faut-il désinfecter ?

Quel degré d'élimination de germes faut-il atteindre ?

Suffit-il de nettoyer ?

Comment et avec quoi nettoyer et/ou désinfecter ?

Outre les souillures multiples dues aux diverses activités et à l'ensemble de la population hospitalière (personnel, visiteurs, patients ...), l'hôpital est soumis à une pollution systématique et automatique du milieu ambiant par des germes pathogènes provenant de malades non isolés. Leurs flores personnelles recèlent un nombre important de germes qui sont potentiellement pathogènes et susceptibles de se multiplier en dehors de l'organisme.

Les germes sont véhiculés par des poussières (fibres, textiles, ...). Ainsi, comme les infections hospitalières peuvent être causées par de la poussière contaminée par des germes, le but de l'entretien ménager consiste naturellement à éliminer la poussière et les saletés chargées de germes indésirables pour éviter leur dissémination par contact.

3. Entretien, hygiène et salubrité des objets, des surfaces et des locaux

Les mesures d'entretien des objets, des surfaces et des locaux sont importantes. Ces mesures sont efficaces pour réduire la transmission des infections, pourvu que les produits, leur utilisation et la fréquence d'entretien soient adéquats. L'utilisation inappropriée d'un produit peut rendre les mesures inefficaces et avoir pour conséquence de ne pas protéger les occupants contre les infections et de les exposer inutilement à des substances chimiques. L'utilisation inappropriée de plusieurs produits peut provoquer des réactions chimiques et exposer les occupants à des émanations chimiques toxiques. Les mesures d'entretien doivent être adaptées en fonction des risques de transmission des infections, des caractéristiques des surfaces et objets ainsi que des moyens disponibles. Repérer les endroits où se trouvent les agents infectieux aide à cibler les interventions. Deux types de surfaces et objets doivent particulièrement être recherchés à cause du risque de transmission élevé qu'ils représentent :

— Les surfaces et objets à haut risque, qui incluent les zones à risque de contact avec le sang, les selles, les autres liquides biologiques et la peau, par exemple : • table à langer; • vestiaires, douches, toilettes; • équipements sportifs partagés comme les matelas.

— Les surfaces fréquemment touchées, par exemple : • poignées de porte; • table pour repas; • clavier et souris d'ordinateur partagés; • jouets. Certaines caractéristiques des surfaces et objets influencent le choix des mesures d'entretien. On distingue 2 types de surfaces :

— Poreuses.

— Non poreuses.

Une surface non poreuse est lisse et imperméable. Parmi les surfaces non poreuses, on distingue celles en contact avec les aliments et celles non en contact avec les aliments. Une surface poreuse est perméable. Elle se laisse traverser par les liquides ou les gaz et retient donc les micro-organismes. Un tapis est un exemple de surface poreuse. Les surfaces poreuses ne peuvent pas être désinfectées, car aucun produit désinfectant n'est jugé efficace pour elles. Elles peuvent seulement être nettoyées et assainies. C'est pour cette raison qu'elles ne sont pas recommandées aux endroits susceptibles d'être en contact avec du sang ou d'autres liquides biologiques.

Il existe 3 niveaux d'entretien :

— Le nettoyage.

— La désinfection.

— L'assainissement.

Pour que les niveaux d'entretien fonctionnent, il est fondamental qu'ils soient bien faits.

3.1. Nettoyage

Le nettoyage doit toujours précéder l'assainissement ou la désinfection. Le nettoyage permet d'enlever un certain nombre d'agents infectieux, mais il ne les détruit pas. Il élimine les éléments qui sont propices à leur prolifération, comme la saleté, l'eau, la graisse, la poussière et les matières organiques. Comme l'assainissement, le nettoyage élimine aussi les biofilms (voir l'encadré plus bas). Le nettoyage diminue ainsi les besoins d'assainissement ou de désinfection et augmente l'efficacité des assainisseurs ou des désinfectants utilisés. Avant de procéder au nettoyage, il est nécessaire d'enlever et jeter toutes les particules visibles à l'œil nu. Un rinçage peut aussi être fait avant l'étape du nettoyage lorsque la surface ou l'objet est très souillé.

Les biofilms : Un biofilm peut se former en quelques heures dans un environnement humide (par exemple, la salle de bain, les toilettes et la cuisine). Un biofilm est formé d'une membrane qui protège les bactéries qui s'agglomèrent, survivent et prolifèrent en dessous. Les bactéries contenues dans le biofilm peuvent s'en détacher et être une source constante de contamination. Si un désinfectant est utilisé sans que la membrane soit brisée, les bactéries continueront à se développer et à proliférer. Pour atteindre les bactéries contenues dans le biofilm, il faut briser la membrane par une action mécanique, par exemple en frottant avec un chiffon ou une vadrouille avec de l'eau et du savon.

Le nettoyage doit se faire avec de l'eau propre et du savon ou un nettoyant. Le savon ou le nettoyant utilisé sera choisi en fonction de la tâche à effectuer. Le rinçage est nécessaire après le nettoyage pour éliminer les particules résiduelles de savon et de matières organiques qui pourraient favoriser le développement des micro-organismes. S'il y a lieu, les produits de nettoyage devront être compatibles avec les produits utilisés pour l'assainissement ou la désinfection et être entièrement solubles dans l'eau. Si un même produit est utilisé pour nettoyer et assainir ou nettoyer et désinfecter, 2 applications consécutives de ce produit doivent être effectuées. Il faut s'assurer de bien utiliser le produit selon les recommandations du fabricant.

Plusieurs outils peuvent être utilisés pour effectuer le nettoyage, tels que serviettes, vadrouilles, brosses. Les outils faits de microfibres représentent plusieurs avantages (voir l'encadré ci-dessous). Des lingettes jetables peuvent aussi être utilisées à la condition qu'elles soient destinées à cet usage et qu'elles soient compatibles avec les produits utilisés pour l'assainissement ou la désinfection. Il est important de toujours

bien suivre les instructions du fabricant. Les éponges sont à éviter, car elles se contaminent rapidement.

Les microfibrilles Les microfibrilles sont faites de polyester et de nylon (polyamide). Plusieurs outils sont offerts sur le marché (linge, vadrouille, balai, plumeau...).

Les avantages :

— Les microfibrilles permettent une action mécanique plus grande (elles se glissent plus facilement dans les petites crevasses) et une action abrasive plus efficace pour déloger la saleté et briser les biofilms.

— Elles sont absorbantes.

— Elles sont durables.

Les désavantages :

— Elles coûtent plus cher.

— Elles sont incompatibles avec l'eau de Javel.

— Elles ne doivent pas être lavées avec d'autres types de tissus. Aucun assouplissant (liquide ou en feuilles) ne doit être utilisé. Le séchage doit se faire à basse température pour ne pas les abîmer. — Elles sont inflammables et libèrent des vapeurs toxiques lorsqu'elles sont séchées à trop haute température.

3.2. Assainissement et désinfection

Selon la surface ou l'objet et le risque de contamination, il peut être nécessaire d'assainir ou de désinfecter. L'assainissement ou la désinfection s'effectuent après l'étape du nettoyage.

3.2.1. Assainissement

L'assainissement permet de réduire la quantité d'agents infectieux à un niveau jugé sécuritaire et sans danger sans les éliminer complètement. Par exemple, les surfaces alimentaires, la vaisselle et les ustensiles sont assainis. Il existe 2 façons d'assainir :

— Assainissement chimique.

— Assainissement thermique (à l'eau chaude). L'assainissement à l'eau chaude est surtout utilisé pour la vaisselle et les objets qui peuvent être immergés dans l'eau

chaude. Pour être efficace, la température de l'eau doit être d'au moins 77 °C et la durée de l'immersion doit être d'au moins 30 secondes.

L'assainissement à l'eau chaude peut aussi se faire au lave-vaisselle. Pour la majorité des lave-vaisselles, l'assainissement se fait lors du cycle du rinçage. L'assainissement chimique se fait avec un produit. Pour être reconnu comme un assainisseur, le produit n'a pas besoin d'être virucide ou d'agir contre les champignons ou la moisissure. L'assainissement chimique n'est efficace que si les instructions du fabricant sont respectées au regard de la dilution, du mode d'utilisation, de la température de l'eau, du temps de contact et de la nécessité de rincer ou non. Les assainisseurs peuvent être approuvés pour un usage alimentaire ou non alimentaire. Il faut utiliser un assainisseur pour objets ou surfaces alimentaires lorsque l'objet est susceptible d'être porté à la bouche ou que la surface est susceptible d'être en contact avec des aliments. Pour certains assainisseurs pour surfaces alimentaires, un rinçage à l'eau avant tout contact avec les aliments est nécessaire. Il est primordial de vérifier les instructions du fabricant. Les assainisseurs pour surfaces non alimentaires doivent satisfaire aux normes prévues par la Loi sur les aliments, les matériaux d'emballage et les produits chimiques non alimentaires acceptés. Le produit assainisseur doit être utilisé selon le mode d'emploi (concentration, température de l'eau et temps de contact) et être entreposé, comme tout autre produit d'entretien ménager, dans un contenant à l'écart des aliments et hors de la portée des enfants. Le nom du produit doit être indiqué sur le contenant. Un même produit peut être utilisé pour assainir ou désinfecter. Il faut suivre les recommandations du fabricant. Il est recommandé d'alterner les produits chimiques pour maintenir l'efficacité de l'assainissement et éviter que les micro-organismes deviennent résistants aux assainisseurs.

3.2.2. Désinfection

La désinfection détruit ou inactive de façon irréversible les agents infectieux sans nécessairement éliminer les spores des bactéries ou des champignons. La désinfection est nécessaire pour les objets et surfaces les plus à risque de contamination, en cas d'éclosions et pour certains objets et surfaces qui ont été en contact avec des liquides biologiques ou qui sont à risque de l'être, par exemple la table à langer. Seules les surfaces non poreuses peuvent être désinfectées.

La désinfection s'effectue à l'aide d'un produit chimique. Le produit utilisé doit être reconnu comme un désinfectant, le caractère virucide du produit n'est pas toujours indiqué sur le contenant, mais on devrait pouvoir obtenir cette information auprès du fabricant. Le produit désinfectant doit être utilisé selon le mode d'emploi (concentration, température de l'eau et temps de contact) et être entreposé, comme tout autre produit d'entretien ménager, dans un contenant à l'écart des aliments et hors de la portée des enfants. Le produit doit être indiqué sur le contenant. L'eau de

Javel est un produit désinfectant souvent utilisé (voir la section sur l'eau de Javel plus loin pour les recommandations d'utilisation). S'il y a présence de personnes intolérantes à l'eau de Javel au service de garde ou à l'école, des désinfectants à base de peroxyde d'hydrogène peuvent être une bonne option. Comme l'eau de Javel, les produits à base d'ammonium quaternaire peuvent provoquer des symptômes d'asthme. Il n'est donc pas recommandé de les utiliser. La désinfection par ionisation de l'eau n'est pas recommandée non plus, car les preuves scientifiques sont pour l'instant insuffisantes pour conclure à son efficacité et à son innocuité. Il existe, sur le marché, une panoplie de lingettes jetables pour les surfaces et les objets. Qu'elles soient pour le nettoyage, l'assainissement ou la désinfection, il est important de bien suivre les recommandations du fabricant pour les utiliser adéquatement et être sûr de leur efficacité. Il faut s'assurer que les lingettes utilisées sont approuvées pour les objets et surfaces alimentaires lorsque l'objet est susceptible d'être porté à la bouche ou que la surface est susceptible d'être en contact avec des aliments.

4. Principes et méthodes d'entretien

Les germes qui sont sur le sol ne doivent pas être, par l'acte du nettoyage, remis en suspension dans l'air. Il est donc strictement admis actuellement que *le balayage à sec est une erreur* dans les milieux hospitaliers. Il en va de même pour l'utilisation de l'aspirateur à poussière.

En effet, lorsque l'aspirateur est mis en marche, il y a souvent un déplacement d'air qui fait que les poussières chargées des germes peuvent être remises en suspension dans l'air.

On n'utilise donc pas l'aspirateur à poussière pour le nettoyage des locaux hospitaliers et il reste donc que *le nettoyage humide est le seul valable*.

Cette règle générale peut cependant souffrir quelques exceptions. En effet, dans certains secteurs comme la dermatologie par exemple, où le nombre de pellicules de desquamation cutanées est élevé, il peut être utile de disposer d'un aspirateur à poussière, mais de toute manière, il ne peut s'agir d'un aspirateur ménager.

Il faut un aspirateur spécialement conçu pour usage dans les hôpitaux :

- L'aspirateur ne peut laisser échapper les germes aspirés.

Il faut donc qu'il existe deux couches de matériel filtrant en amont du mécanisme d'aspiration.

- Ces filtres doivent être séparés l'un de l'autre de façon telle que s'il y a une défaillance du premier filtre, elle peut être corrigée par le second.

- L'aspirateur doit être conçu de telle manière que la poussière soit récoltée dans un sac à usage unique.
- Le sac collecteur doit être renouvelé chaque jour pour éviter qu'il n'éclate par remplissage excessif.
- Le sac collecteur, au moment de l'enlèvement, doit pouvoir être fermé sans dissémination de la poussière, jeté immédiatement et de préférence incinéré. Il ne peut être réutilisé.
- L'échappement de l'aspirateur doit être situé de telle manière que l'air expulsé soit bien diffusé afin qu'il ne se crée pas un tourbillon d'air derrière l'aspirateur qui soulèverait toute la poussière déposée sur le sol.

Ainsi :

- * Le balayage à sec est à proscrire parce qu'il remet dans l'atmosphère toute la poussière chargée de germes qui a sédimenté;
- * L'usage des aspirateurs doit être exceptionnel et lorsque c'est indiqué, il faut utiliser des aspirateurs spécialement conçus pour l'usage hospitalier;
- * La technique de base, seule recommandable, est le nettoyage humide, mais à une condition essentielle, c'est que le liquide et le matériel de nettoyage ne servent pas eux-mêmes de transporteurs de germes d'un local à l'autre.

N.B. Le balayage "hygiénique", parfois appelé improprement "balayage humide", au moyen de non-tissés préimprégnés n'est acceptable que comme phase préparatoire au nettoyage humide.

En matière de produits de nettoyage, certains auteurs affirment aujourd'hui que l'emploi de désinfectants est inutile et occasionne des frais supplémentaires.

Ils se basent sur l'observation que 2 h après le nettoyage, le nombre de germes présents sur le sol, qui proviennent essentiellement des occupants du local, s'est reconstitué et se maintient en plateau par l'équilibre qui s'établit entre la production de germes et leur diminution spontanée.

5. Prévention de la contamination croisée

La contamination croisée est le passage d'agents infectieux d'une surface, d'une personne ou d'un objet à un autre qui peut se produire lors du nettoyage, de

l'assainissement ou de la désinfection. Pour la prévenir, il est important d'en prendre conscience et d'éviter la diffusion des agents infectieux dans l'environnement par les mains, objets, liquides et autres utilisés lors de l'entretien. Pour prévenir la contamination croisée :

- Nettoyer après usage et faire sécher les chiffons et vadrouilles souillés afin de diminuer le niveau de contamination. Ne pas les laisser tremper dans l'eau souillée.
- Utiliser des chiffons et vadrouilles propres seulement avec une solution propre faite dans un contenant propre. Ne pas laisser de solution résiduelle dans le seau et le faire sécher autant que possible entre les utilisations.
- Utiliser une poubelle à pédale pour éviter que les mains propres touchent la poubelle sale.
- Utiliser un code de couleurs pour les chiffons et vadrouilles (ex. : rouge pour les zones à risque telles que les toilettes et tables à langer, bleu pour les autres). L'installation de robinets automatiques peut aussi réduire le risque de contamination croisée, car les poignées de robinets sont souvent contaminées.

Références bibliographiques

- Bertrand, J-C., Caumette, P., Lebaron, P., Matheron, R., Normand, P., Sime-
Ngando, T. “Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications”.
Springer Science+Business Media Dordrecht, 2015, pp 933.
- Corpet, D. “ Etude de l’écologie microbienne de l’intestin : modèles *in vitro*, *in
vivo* et mathématiques”. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1989, 8(2) : 375-389.
- Corpet, D. “Écologie microbienne des aliments”. ENTV HIDAOA, 2007, pp 27.
- Drapeau, A-J. & Jankovic, S. “ Manuel de microbiologie de l’environnement”.
Organisation mondiale de la santé, 1977, pp 261.
- George, P. “ Cycles biogéochimiques et écosystèmes continentaux ”, Académie
des sciences, 2007, pp 482.
- Hurst, CJ. “ Their World: A Diversity of Microbial Environments ”. *Advances
in Environmental Microbiology*, 2016, Vol 01, pp 391.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D.A. and Clark, D. P. 2012. Unit7:
Microbial Ecology; Unit 8: Chapter 27: Microbial interactions with humans. *In*
Brock Biology of Microorganisms 13th edition, Pearson Education, Inc.,
publishing as Benjamin Cummings, 1301 Sansome Street, San Francisco, CA,
pp: 643-755; 787-815.
- Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood et Woolverton. 2010. Partie VIII.
Ecologie et symbiose. *In* : Microbiologie. Traduction de la 7ème édition
américaine. Editions DeBoeck Université Bruxelles.pp: 643-739.
- Prescott, L. M. Harley and Klein. 2002. VIII Ecology and Symbiosis. *In*
Microbiology. Fifth edition. The McGraw– Hill Companies, pp: 596-697.
- Prescott, Harley et Klein. 1995. Les microorganismes et l’environnement.
Dixième partie. *In* : Microbiologie. Second edition. DeBoeck Wesmael S.A.
Bruxelles. pp : 804-845.