



HAL
open science

Composés pharmaceutiques et eaux usées urbaines. I, Analyse bibliographique. II, Effet de deux antibiotiques de type macrolide sur les boues activées

Abolghasem Alighardashi

► **To cite this version:**

Abolghasem Alighardashi. Composés pharmaceutiques et eaux usées urbaines. I, Analyse bibliographique. II, Effet de deux antibiotiques de type macrolide sur les boues activées. Autre. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2007. Français. NNT : 2007INPL050N . tel-01752822

HAL Id: tel-01752822

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752822>

Submitted on 29 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Composés pharmaceutiques et eaux usées urbaines

- I. Analyse bibliographique
- II. Effet de deux antibiotiques de type macrolide sur les boues activées

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 10 septembre 2007

pour l'obtention du

Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine
(spécialité Génie des Procédés et des Produits)

par

Abolghasem ALIGHARDASHI

M.Sc. de l'Université de Téhéran (Iran)

Composition du Jury

Rapporteurs : M. C. DAGOT
M. N. ROCHE

Membres : M. H. ALEBOYEH
M. C. MERLIN
Mlle. M.N. PONS
M. O. POTIER

à Zahra

et

en souvenir de mon Père

AVANT- PROPOS

Je voudrais tout d'abord remercier *Marie-Noëlle PONS*, Directeur de Recherche au CNRS, pour la proposition de ce sujet de thèse et pour m'avoir si bien accueilli. Ses qualités scientifiques, sa passion pour la recherche et ses connaissances m'ont permis de travailler sereinement à ses côtés et m'ont donné l'envie de poursuivre mes recherches scientifiques. Je suis également reconnaissant envers le **MSRT** (le Gouvernement Iranien) et la **SFERE** pour leur soutien financier.

Je remercie *Hamid ALEBOYEH* (Professeur à l'Université de Haute Alsace) d'avoir accepté de **présider** ce jury.

Je remercie vivement *Olivier Potier*, Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Supérieure en Génie des Systèmes Industriels et chercheur au LSGC, d'avoir co-dirigé ce travail et pour ses conseils scientifiques et linguistiques et son aide précieuse.

Je remercie également *Christophe DAGOT* (Professeur à l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Limoges) et *Nicolas ROCHE* (Professeur à Université Paul Cézanne -Aix-Marseille III) pour avoir accepté d'être les **rapporteurs** de ma thèse et pour la pertinence de leurs critiques. Je remercie aussi *Christophe MERLIN* (Maître de Conférences à l'Université Henri Poincaré, Nancy) pour avoir examiné ce rapport et accepté d'être membre du jury.

J'apporte ma gratitude à *Didier Aubry* pour ses cours de langue française et son amitié, ainsi qu'à *Jean-François, Stéphane, Mehdi* et *Brahim*, mes amis, pour avoir pré corrigé ce rapport.

J'aimerais aussi remercier *Denis*, (post doctorant au LSGC) et *Maria* qui m'ont beaucoup aidé pour cette thèse.

Mes remerciements vont également aux permanents et doctorants du groupe Système Polyphasique (SysPol) et du groupe Génie des Procédés pour l'Energie et l'Environnement (GP2E), qui ont rendu mon séjour Nancéen accueillant et sympathique; citons: *Steve, François, Abderrazak, Jean-Pierre, Isabelle, Djalal, Farouk, Shahid, Michal, Nicolas* et *Thibaut*.

J'aimerais aussi remercier la communauté des Etudiants **Iraniens** à Nancy, pour l'amitié et le support qu'ils m'ont apportés : *Karimi, Heshmatolvaezin, Shamsi nejad, Ardianian*... .

Je tiens aussi à remercier mes amis qui sont en France et en Iran, qui compte tenu du nombre ne seront pas tous cités ici : *Iman, Hélén, Ali, Abbas*

Je tiens finalement à apporter toute ma gratitude et mes remerciements à *ma mère*, ainsi qu'à mes frères, *Ali Mohammad, Abolhasan, Ali Asghar* et *Ali Reza* pour l'amour, l'amitié, le soutien et sans lesquels je n'aurais pas pu faire ce travail.

“The last but not the least” : Je tiens finalement à apporter toute ma gratitude et mes remerciements à **ma petite famille** (*Zahra* et *Noushin*) pour son soutien et sa patience, sa confiance en moi et ses précieux encouragements.

1.4.4	Présence des antibiotiques dans les STEP.....	66
1.4.5	Consommation d'érythromycine.....	67
1.4.6	Procédés de traitement des eaux usées et élimination des composés médicaux.....	68
1.5	Conclusion	70
2.	Matériels et Méthodes	71
2.1	Présentation des sites de prélèvements et des appareils pilotes.....	72
2.1.1	Station d'épuration de Nancy-Maxéville.....	72
2.1.2	Station d'épuration de Pont-à-Mousson.....	74
2.1.3	Appareillages de laboratoire.....	74
2.1.4	Substances utilisées en manipulation.....	75
2.1.5	Prélèvement et stockage des échantillons.....	75
2.2	Analyses physico-chimiques	76
2.2.1	Matières sèches (MS).....	76
2.2.2	Matières volatiles (MV).....	76
2.2.3	Détermination de la dose de coagulant/floculant (Jar Test).....	76
2.2.4	Spectrophotométrie d'absorbance UV-Visible.....	79
2.2.4.1	Spectre UV-Visible et nitrification.....	79
2.2.4.2	Spectre UV-Visible et concentration de la tylosine dans l'eau distillée.....	82
2.2.4.3	Spectre UV-Visible d'eau usée en présence de tylosine.....	83
2.2.5	Spectrofluorimétrie.....	84
2.2.6	Spectro-photocolorimétrie.....	85
2.2.6.1	Azote ammoniacal.....	85
2.2.6.2	Nitrite.....	86
2.2.6.3	Nitrate.....	86
2.2.7	Chromatographie ionique.....	86
2.3	Préparations microscopiques et systèmes d'acquisition des images.....	89
2.3.1	Préparations microscopiques.....	89
2.3.1.1	Préparation "état frais"	89
2.3.1.2	Préparation "état sec"	89
2.3.1.3	Préparation avec la coloration de Gram.....	90
2.3.2	Systèmes d'acquisition des images.....	91
2.3.2.1	Echantillons.....	91
2.3.4.2	Microscope optique.....	91
2.4	Analyse d'image	92
2.4.1	Transformation des images couleurs en image monochrome.....	92
2.4.2	Programme Flocs_sec.....	93
2.4.3	Programme Gram_frag.....	95

3. Résultats et discussion	97
3.1 Effet de l'érythromycine	98
3.1.1 Effet global sur la biomasse.....	98
3.1.2 Effet sur la DCO soluble.....	99
3.1.3 Effet sur la transformation des matières azotées.....	99
3.1.3.1 Azote organique.....	100
3.1.3.2 Azote Ammoniacal.....	102
3.1.3.3 Nitrites.....	103
3.1.3.4 Nitrates.....	103
3.1.4 Effet de l'érythromycine sur la morphologie des boues.....	104
3.1.4.1 Modification des floccs.....	107
3.1.4.2 Bactéries filamenteuses.....	108
3.1.5 Caractéristiques Gram.....	113
3.2 Effet de la tylosine	116
3.2.1 Effet global sur la biomasse.....	116
3.2.2 Effet de la tylosine sur les propriétés spectroscopiques des eaux usées..	117
3.2.3 Effet sur la transformation des matières azotées.....	118
3.2.3.1 Azote ammoniacal.....	118
3.2.3.2 Nitrites.....	119
3.2.3.3 Nitrates.....	120
3.2.4 Effet de la tylosine sur les boues.....	121
3.2.4.1 Morphologie des floccs.....	121
3.2.4.2 Bactéries filamenteuses.....	122
3.2.5 Caractéristiques Gram.....	124
3.3 Influence de l'origine des boues activées	124
3.4 Modification de la structure des floccs par coagulation-floculation	126
3.4.1 Effet global sur la biomasse.....	126
3.4.2 Consommation de l'azote ammoniacal et production des nitrates.....	127
3.4.3 Structure de la biomasse.....	128
3.5 Discussion	132
3.5.1 Action sur les bactéries nitrifiantes.....	132
3.5.2 Schéma global du devenir des composés azotés.....	134
3.5.3 Action sur les bactéries hétérotrophes.....	135
3.5.4 Essai de protection des bactéries par modification de la structure des floccs.....	135
3.5.5 Sensibilité des bactéries des boues activées aux macrolides.....	136
Conclusion Générale & Perspectives	139
Références bibliographiques	142

Annexes

Nomenclature

Abréviations et sigles

<i>ADN</i>	Acide désoxyribonucléique
<i>AMO</i>	Ammonium monooxygénase
<i>ARN</i>	Acide ribonucléique
<i>ATC</i>	Système de classification Anatomique, Thérapeutique et Chimique
<i>ATP</i>	Adénosine tri-phosphate
<i>CAS</i>	Chemical abstracts service
<i>CUGN</i>	Communié Urbaine du Grand Nancy
<i>DBO₅</i>	Demande biochimique en oxygène après cinq jours
<i>DCO</i>	Demande chimique en oxygène
<i>EH</i>	Equivalent - habitant
<i>EPS</i>	Exopolysaccharides
<i>GAO</i>	Glycogen accumulating organisms
<i>HAO</i>	Hydroxylamine oxydoréductase
<i>IRM</i>	Imagerie par résonance magnétique
<i>IUPAC</i>	The international union of pure and applied chemistry
<i>MEC</i>	Concentration environnementale mesurée
<i>MES</i>	Matières en suspension
<i>MO</i>	Matières organiques
<i>MS</i>	Matières sèches
<i>MV</i>	Matières volatiles
<i>NACWA</i>	The national association of clean water agency
<i>NOEC</i>	Concentration sans effet observé
<i>NOR</i>	Nitrite oxydoréductase
<i>NTK</i>	Azote total kjeldahl
<i>ONU</i>	Organisation des nations unis
<i>PAO</i>	Polyphosphate accumulating organisms
<i>PC</i>	Type d'ordinateur compatible IBM
<i>PEC</i>	Concentration prédite sans effet
<i>PNEC</i>	Concentration de la substance dans l'environnement
<i>rRNA</i>	Acide ribonucléique ribosomique
<i>SBR</i>	Réacteur discontinu séquentiel
<i>STEP</i>	Station de traitement des eaux usées
<i>U.S. EPA</i>	Unites states environmental protection agency
<i>WHO</i>	World health organization
<i>WNDR</i>	Wisconsin department of natural resource

Abréviations des composés médicaux

<i>AOI</i>	Iodised X-Ray contrast media (Composés organiques adsorbables à base d'iode)
<i>AOX</i>	Adsorbable Organic Halogen Compound (Composés organiques halogénés adsorbables)

<i>E1</i>	Estrone
<i>E1-G</i>	Estrone β -D-glucuronide
<i>E1-S</i>	Estrone-3-sulfate
<i>E2</i>	17 β -Estradiol
<i>E2 S&G</i>	β -Estradiol 3-sulfate 17-glucuronide
<i>E2-diS</i>	Estradiol 3,17-disulfate
<i>E2-G</i>	β -Estradiol 17- β -D-glucuronide
<i>E2-S</i>	β -Estradiol 3-sulfate
<i>E3</i>	17 α -Estriol
<i>E3-G</i>	Estriol 17- β -D-glucuronide
<i>E3-S</i>	Estriol 3-sulfate
<i>EE2</i>	17 α -Ethinylloestradiol
<i>ERY</i>	Erythromycine
<i>TYL</i>	Tylosine

Symboles latins

A_{220}	Absorbance à 220 nm
A_{254}	Absorbance à 254 nm
<i>Abs</i>	Absorbance
<i>C</i>	Concentration
D_{eq}	Diamètre équivalent
$F_{284, 334}$	Fluorescence à la longueur d'onde d'excitation 234 nm et d'émission 334 nm
<i>h</i>	Heure
K_S	Constante de demi-saturation du substrat
L_{fil}	Longueur des filaments (surface occupée par le filament)
L_S	Longueur du squelette filamenteux
M_{2X}	Moment de 2 nd ordre sur l'axe <i>X</i>
M_{2Y}	Moment de 2 nd ordre sur l'axe <i>Y</i>
<i>min</i>	Minute
N_b	Nombre total des flocs ou des filaments
<i>ppm</i>	Parties par million (= mg/l)
R^2	Coefficient of détermination
r_g	Rayon de giration
<i>S</i>	Concentration de substrat (dans l'équation Monod)
<i>T</i>	Témoin

Symboles Grecs

λ_{ex}	Longueur d'onde d'excitation
$\lambda_{ém}$	Longueur d'onde d'émission
μ	Vitesse spécifique de croissance
μ_m	Taux maximal de croissance pour les bactéries
γ	Grandissement
ΔG	Energie libre de Gibbs
μS	Conductivité mesurée en micro-Siemens

Liste des figures

1.1	Schéma classique de la station d'épuration.....	7
1.2	Procédés par boues activées.....	8
1.3	Paroi et membrane des bactéries à Gram ⁺	10
1.4	Paroi et membrane des bactéries à Gram ⁻	10
1.5	Représentation de la membrane cytoplasmique.....	11
1.6	Bactéries filamenteuses.....	12
1.7	Cycle de l'azote.....	15
1.8	Arbre phylogénique de γ -protéobactéries.....	17
1.9	Arbre phylogénique de β -protéobactéries.....	17
1.10	Arbre phylogénétique de bactéries nitrifiantes.....	18
1.11	Effet de la température sur la vitesse maximale de croissance.....	19
1.12	Influence de l'oxygène dissous et de l'âge des boues sur l'élimination de l'azote ammoniacal.....	20
1.13	Effet du pH sur la nitrification à 20 °C.....	20
1.14	Représentation graphique de l'importance de quelques composés organiques dans les boues de STEP.....	26
1.15	Ventilation de la consommation pharmaceutique selon les classes thérapeutiques en France.....	29
1.16	Structure chimique de l'érythromycine.....	57
1.17	Structure chimique de la tylosine.....	58
1.18	Mode d'action des antibiotiques.....	59
1.19	Consommation estimée des 10 médicaments les plus utilisés en Allemagne.....	61
1.20	Consommation estimée des 10 médicaments les plus utilisés au Royaume-Uni.....	62
1.21	Consommation estimée des 10 médicaments les plus utilisés aux Etats-Unis.....	62
1.22	Les groupes de médicaments les plus consommés dans quatre pays (Danemark, Allemagne, Royaume-Uni et Etats-Unis).....	63
1.23	Présence des certains groupes de médicaments dans les STEP.....	64
1.24	Différentes concentrations en hormones observées au niveau des STEP.....	65
1.25	Élimination observée de certaines hormones en STEP.....	66
1.26	Concentrations observées pour certains antibiotiques dans des effluents de STEP.....	67
1.27	Élimination observée de certains antibiotiques dans les STEP.....	67
1.28	Consommation estimée d'érythromycine dans certains pays.....	68
2.1	Plan de la station d'épuration de Nancy-Maxéville.....	72
2.2	Détail d'une cellule du Biolift®.....	73
2.3	Installation des réacteurs au laboratoire.....	75
2.4	Installation de l'analyse Jar Test.....	78
2.5	UV-Visible spectrophotomètre SECOMAN Anthélie Light® relié à un PC.....	79
2.6	Exemple de spectres d'absorption UV-Visible.....	79
2.7	Exemple de spectre de nitrates accompagné des courbes de la dérivée première et de la dérivée seconde.....	80
2.8	Droite d'étalonnage entre la dérivée seconde des spectres UV-Visible et la concentration de nitrate.....	80
2.9	Spectres d'absorption UV-Visible pour les différents concentration en nitrites.....	81

2.10	Corrélation entre les concentrations en nitrites et l'absorbance maximale du spectre UV-Visible.....	81
2.11	Corrélation entre la dérivée seconde et la concentration en nitrites.....	82
2.12	Spectres d'analyse UV-Visible avec différentes concentrations de tylosine.....	82
2.13	Droite d'étalonnages pour des absorbances UV-Visible et la concentration de la tylosine dans l'eau distillée.....	83
2.14	Spectres UV-Visible pour un prélèvement en présence de tylosine.....	83
2.15	Spectrophotomètre de fluorescence Hitachi® (F-2500; Digilab) relié à un PC.....	84
2.16	Exemple de spectre de fluorescence d'échantillon prélevé sur réacteur témoin.....	84
2.17	Spectro-photocolorimètre Hach® DR/2400.....	85
2.18	Droite d'étalonnage pour la mesure de l'azote ammoniacal.....	86
2.19	HPLC DIONEX® relié à un PC.....	87
2.20	Exemple de spectre HPLC.....	87
2.21	Comparaison entre la dérivée seconde et l'HPLC pour le réacteur témoin (a) et le réacteur avec 7 mg/l d'érythromycine (b).....	88
2.22	Image d'un floc préparé par état frais, $\gamma = 100 \text{ X}$	89
2.23	Image de bactéries filamenteuses et de flocs préparés par état sec, $\gamma = 100 \text{ X}$	90
2.24	Exemple de coloration Gram, $\gamma = 250 \text{ X}$	91
2.25	Systèmes d'acquisition des images.....	92
2.26	Transformation des images couleurs en image monochrome.....	93
2.27	Etapes du programme « Flocs_sec ».....	94
2.28	Etapes du programme « Gram_frag ».....	96
3.1	Modification de l'aspect de la biomasse dans un réacteur contenant de l'érythromycine (réacteur témoin à droite).....	98
3.2	Concentrations de MS et MV mesurées au départ et à la fin de deux manipulations différentes sans et avec 20 mg/l d'érythromycine.....	98
3.3	Concentration de MS dans plusieurs réacteurs avec différentes concentrations d'érythromycine.....	99
3.4	Absorbance à 254 nm (en cm^{-1}) en fonction du temps pour différents réacteurs.....	100
3.5	Exemple des spectres de fluorescence synchrone ($\lambda_{\text{ém}} - \lambda_{\text{exc}} = 50 \text{ nm}$) d'échantillons prélevés sur différents réacteurs (temps=4,5 h).....	100
3.6	Fluorescence T ($\lambda_{\text{ex}} = 284 \text{ nm}$ et $\lambda_{\text{ém}} = 334 \text{ nm}$) en fonction du temps pour différents réacteurs.....	101
3.7	Concentration en azote ammoniacal avec différentes concentrations d'érythromycine.....	102
3.8	Evaluation de la concentration du nitrite dans le réacteur témoin (a) et dans le réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine (b).....	103
3.9	Influence de la teneur en érythromycine sur la production de nitrates (dosage HPLC).....	104
3.10	Influence de la teneur en érythromycine sur la production de nitrate (estimation par absorbance à 220 nm).....	105
3.11	Quelques images caractéristiques du changement d'aspect de la biomasse.....	106
3.12	Variation de la surface totale (par image) moyenne occupée par la biomasse en fonction du temps.....	107
3.13	Variation de la surface moyenne occupée par les flocs (par image) en fonction du temps.....	107
3.14	Variation du nombre moyen de flocs (par image) en fonction du temps.....	108

3.15	Surface du floc « moyen » en fonction du temps et de la concentration en érythromycine.....	109
3.16	Variations de la surface occupée par les filaments (a) et de la longueur de squelette (b) en fonction du temps en présence et en absence d'érythromycine.....	110
3.17	Variation de nombre moyen de filaments (par image) en fonction du temps en présence et en absence d'érythromycine.....	111
3.18	Variation de la surface occupée par les filaments en fonction de la concentration en érythromycine.....	112
3.19	Variation de la longueur moyenne de squelette en fonction de la concentration en érythromycine.....	112
3.20	Variation du nombre moyen de filaments en fonction de la concentration d'érythromycine.....	113
3.21	Variation du pourcentage de bactéries Gram ⁻ et Gram ⁺ dans la biomasse totale (flocs et filaments) en présence et en absence d'érythromycine.....	114
3.22	Variations des pourcentages de bactéries filamenteuses de type Gram ⁻ et Gram ⁺ (basée sur la surface occupée par les bactéries) en absence et en présence d'érythromycine.....	114
3.23	Variations des pourcentages de bactéries filamenteuses de type Gram ⁻ et Gram ⁺ (basée sur la longueur du squelette) en absence et en présence d'érythromycine.....	115
3.24	Concentrations en MS mesurées dans les réacteurs au début et à la fin de deux manipulations.....	116
3.25	Effet de la tylosine sur la courbe d'UV-Visible.....	117
3.26	Effet de la tylosine sur la fluorescence de type « tryptophane ».....	117
3.27	Variation de l'azote ammoniacal en fonction du temps dans un réacteur contenant 10 mg/l de tylosine et son réacteur témoin.....	118
3.28	Variation de la concentration en azote ammoniacal en fonction de la concentration de tylosine.....	118
3.29	Variation des nitrites en fonction du temps pour différentes concentrations en érythromycine.....	119
3.30	Variation des nitrates en fonction du temps dans un réacteur avec 5 mg/l de tylosine (b) et son réacteur témoin (a).....	120
3.31	Variation de la concentration en nitrates en présence de différentes concentrations de tylosine.....	121
3.32	Variation du nombre de flocs en fonction du temps pour différentes concentrations en tylosine.....	121
3.33	Variation de la surface du floc « moyen » en fonction du temps pour différentes concentrations de tylosine.....	122
3.34	Changement de surface de filament et longueur de squelette dans les différents réacteurs en fonction de différentes concentrations de tylosine.....	123
3.35	Variation du pourcentage des bactéries Gram ⁺ et Gram ⁻ en présence de tylosine (a) biomasse totale (b) bactéries filamenteuses (surface totale occupée).....	124
3.36	Variation de la vitesse initiale de consommation d'azote ammoniacal du réacteur témoin en fonction de la date de prélèvement (points reliés pour faciliter la lecture).....	125
3.37	Variation de la vitesse initiale spécifique de consommation d'azote ammoniacal dans le réacteur témoin en fonction de la date de prélèvement (points reliés pour faciliter la lecture).....	125
3.38	Effet du chlorure ferrique (5 mg/l) sur les spectres d'absorbance UV-Visible.....	126
3.39	Effet de l'érythromycine sur les MS en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe).....	127

3.40	Variations de l'azote ammoniacal (a) et des nitrates (b) en fonction du temps en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe).....	128
3.41	Variation de nombre de flocs en fonction du temps en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe).....	128
3.42	Variation de la surface du flocc « moyen » en fonction du temps en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe).....	129
3.43	Variation de nombre de filament en fonction du temps en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe).....	130
3.44	Variation de surface de filament (Lfil) en fonction de temps en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe).....	131
3.45	Différence entre les concentrations en azote ammoniacal entre t = 0h et t = 24h pour l'érythromycine.....	132
3.46	Différence entre les concentrations en azote ammoniacal entre t = 0h et t = 24h pour la tylosine.....	133
3.47	Variation de la vitesse initiale de consommation d'azote ammoniacal dans le réacteur témoin et les réacteurs avec érythromycine.....	133
3.48	Variation de la vitesse initiale spécifique de consommation d'azote ammoniacal dans le réacteur témoin et les réacteurs avec érythromycine.....	134
3.49	Comparaison de la dynamique des espèces azotées entre un réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine (b) et son réacteur témoin (a).....	135
3.50	Possibilité de visualisation de l'attaque par l'érythromycine de bactéries filamenteuses protubérantes de type Gram ⁺ (bleu = Gram ⁺ , rose = Gram ⁻).....	137
3.51	Représentation schématique de floccs avec de longues (a) ou de courtes (b) bactéries filamenteuses protubérantes (bleu = Gram ⁺ , rose = Gram ⁻).....	137

Listes des Tableaux

1.1	Différentes formes de l'azote et leur concentration dans les eaux usées domestiques.....	15
1.2	Concentration de certains composés organiques industrielles, inhibiteurs de la nitrification.....	21
1.3	Inhibition de la nitrification par certains métaux.....	22
1.4	Exemples de composés organiques détectés dans les STEP.....	24-25
1.5	Concentration typique de métaux dans les eaux usées.....	26
1.6	Quantités rejetées dans l'environnement de quelques médicaments en Italie en 1997.....	30
1.7	Composés pharmaceutiques les plus utilisés au Danemark.....	31
1.8	Estimation de consommation annuelle de quelques produits pharmaceutiques en Allemagne.....	31
1.9	Dix composés pharmaceutiques les plus consommés aux Etats-Unis.....	32
1.10	Présentation des 20 premiers composés pharmaceutiques les plus consommés aux Royaume-Uni avec leurs rapports PEC et PNEC.....	34
1.11	MEC, PEC et PNEC pour quelques composés pharmaceutiques au Danemark).....	35
1.12	Méthodes analytiques utilisées pour la détection des produits pharmaceutiques dans les eaux usées.....	36
1.13	Présence des hormones dans les STEP.....	38-41
1.14	Concentrations des produits contrastants dans les STEP.....	42
1.15	Présence et devenir de certains antibiotiques et antibactériens dans les STEP.....	44- 46
1.16	Présence et devenir de certains composés pharmaceutiques dans les STEP.....	48-55
1.17	Données chimiques et pharmacocinétiques sur l'érythromycine.....	57
1.18	Consommation de l'érythromycine dans six pays européens et aux Etats-Unis.....	58
1.19	Présentation semi quantitative de l'élimination (en pourcent) de certains médicaments dans les procédés de traitement des eaux usées.....	69
2.1	Principales caractéristiques des eaux usées urbaines de Nancy.....	73
2.2	Principales caractéristique des eaux usées de Pont-à-Mousson.....	74
2.3	Principales caractéristiques des antibiotiques utilisées.....	75
2.4	Coagulants synthétiques utilisés.....	78

Introduction Générale

*"Les vieux croient tout,
Les gens d'âge moyen soupçonnent tout,
Les jeunes savent tout"*

OSCAR WILDE

« Pouvoir accéder à des sources d'eau douce sûres et suffisantes est indispensable à la survie, au bien-être et au développement socioéconomique de l'humanité tout entière. Nous continuons pourtant à nous comporter comme si l'eau douce était inépuisable, alors que ce n'est pas le cas. » (**Kofi Annan**, *ancien Secrétaire Général des Nations Unies*)

L'eau est le vecteur privilégié de la vie et de l'activité humaine. Globalement on peut lier la question de l'eau aux problèmes suivants :

- **Manque d'eau** : Environ 97,5 % de l'eau de la planète se trouve dans les océans ; elle est donc trop salée pour qu'on la boive et qu'on l'utilise directement en agriculture ou dans l'industrie. Ainsi, seulement 2,5 % de l'eau du globe est douce. Cependant, la majeure partie est difficilement accessible car sous forme de glace et neiges éternelles (70 %). En fin de compte, moins de 1% de l'eau douce du monde est aisément accessible pour des usages humains directs (WHO, 2006). De plus elle n'est pas équitablement répartie. C'est là que réside le principal problème. Ainsi, selon certaines estimations, l'Asie possède 36 % de l'eau contenue dans le monde sous forme de lacs, fleuves et rivières, tandis que sa population représente 60 % de la population mondiale. Inversement, l'Amazonie contient 15 % des eaux de surface de la planète, mais seuls 0,4 % des êtres humains vivent assez près pour en profiter. La répartition inégale de l'eau concerne également les précipitations. Certaines régions ne reçoivent presque jamais de pluie. D'autres, bien que parfois arrosées, connaissent des périodes de sécheresse.
- **Population croissante, demande croissante** : A la répartition inégale de l'eau s'ajoute un second problème : à mesure que la population augmente, la demande en eau augmente également. Au niveau mondial, les précipitations restent à peu près constantes, tandis qu'il se produit une explosion démographique. La consommation d'eau a au moins doublé au cours du vingtième siècle et, selon certaines estimations, elle pourrait encore doubler dans les 20 prochaines années. Pour l'ensemble de ses usages domestiques, industriels et agricoles, un homme consomme en moyenne 250 m³ d'eau/an (Degrémont, 1989). Les énormes disparités de consommation à travers le monde, de 100 à 1500 m³.habitant⁻¹.an⁻¹

selon le niveau de développement des pays, montrent que les besoins en eau de l'humanité continueront à croître. Actuellement, selon l'ONU, 1,1 milliard de personnes (~ 20% de la population mondiale) n'ont pas accès à l'eau potable et 2,4 milliards à une eau sanitaire (ONU, 1999). Si on n'entreprend pas une action urgente contre la situation actuelle, le nombre de personnes qui subissent ces limitations d'approvisionnement en eau potable pourrait atteindre 2,3 milliards en 2025 (~ 30% de la population mondiale).

- **Pollution** : Au manque d'eau et à la demande croissante due à la pression démographique, il faut ajouter un troisième problème, qui leur est apparenté : la pollution. Dans les pays en développement, presque tous les cours d'eau importants sont pollués par des eaux usées non traitées. S'ils ne sont pas souillés par des eaux usées, les cours d'eau et les nappes souterraines des pays développés sont néanmoins souvent pollués par les produits chimiques toxiques, provenant entre autres des substances phytosanitaires utilisées en agriculture. La pollution est donc un problème mondial.
- **Eau infectée et santé** : Dans les pays en développement, estime l'ONU, 80 % des maladies sont dus à la consommation d'une eau impure. Les agents pathogènes et la pollution de l'eau tuent chaque année 5,3 millions de personnes. Si aucune action n'est engagée pour traiter ce problème, presque 135 millions de personnes mourront avant 2020 à cause de la pollution de l'eau. Cependant, les pays en développement n'ont pas l'exclusivité des maladies dues à l'eau. En 1993, à Milwaukee (Etats-Unis) 400000 personnes sont tombées malades après avoir bu de l'eau du robinet contaminée par un protozoaire (*Cryptosporidium*) résistant au chlore.

Par ailleurs, les ressources en eau potable sont de plus en plus vulnérables et se raréfient. Il est donc indispensable de limiter les rejets de pollution dans le milieu naturel. Ceci nécessite de traiter l'ensemble des effluents domestiques et industriels. Ces traitements peuvent être réalisés par voie biologique, chimique, mécanique ou par une combinaison des trois.

Motivation

Les traitements de base appliqués aux pollutions dues au carbone, à l'azote et au phosphore sont maintenant bien éprouvés. Cependant le devenir de micropolluants (chimiques comme les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs), biochimiques comme les perturbateurs endocriniens), des métaux (cuivre, plomb, zinc, aluminium, etc.), des microorganismes pathogènes (virus, bactéries, protozoaires) dans la chaîne de traitement est mal connu. Il peut également y avoir des synergies entre ces composés. Un autre phénomène préoccupant est le développement de résistances aux antibiotiques acquises par des bactéries des boues activées et transmise à des agents pathogènes.

Les différents composés susmentionnés sont issus du métabolisme humain ou animal et des activités humaines. Parmi eux, les substances pharmaceutiques sont les plus importantes car elles sont essentielles à la vie moderne. Il y a environ 4000 médicaments disponibles actuellement (Jørgensen, 2000). Plusieurs travaux réalisés en Europe et en Amérique du Nord montrent la présence de composés pharmaceutiques dans les environnements aquatiques (Heberer, 2002).

Les stations d'épuration des eaux usées (STEP) sont la principale source de dispersion de composés pharmaceutiques à usage humain dans l'environnement. En général, les concentrations mesurées dans les effluents de station d'épuration sont de quelques ng/l à quelques µg/l. Dans l'eau de surface, ces concentrations varient entre 10-500 ng/l (Ternes et al, 2004). Des résidus de ces substances ont été trouvés dans les eaux souterraines et dans l'eau potable.

Dans notre travail de recherche nous nous sommes intéressés à l'effet des antibiotiques (un exemple important de polluant secondaire) et plus particulièrement à deux antibiotiques de type macrolide sur les procédés de traitement des eaux usées. La consommation des macrolides est considérable en médecine humaine (érythromycine) et vétérinaire (tylosine). L'érythromycine a été détectée dans tous les milieux aquatiques en faible concentration de 5 ng/l à 6 µg/l (Kolpin et al., 2002 ; Sacher et al., 2001 ; Göbel et al., 2004). La tylosine a été détectée jusqu'à 0,28 µg/l dans certains ruisseaux aux Etats-Unis (Kolpin et al., 2002). La présence d'antibiotiques dans les STEP a deux conséquences :

- soit ils agissent sur les microorganismes des STEP et ils affectent leurs actions et diminuent le rendement d'épuration.
- soit ils sont rejetés dans la nature sans élimination.

Dans les deux cas, ils sont susceptibles d'induire une résistance (acquisition par la bactérie d'un mécanisme lui permettant de s'opposer à l'action de l'antibiotique) qui peut être transmise de bactérie à bactérie. On se pose ainsi des questions sur la possibilité de transmission de résistance à des bactéries pathogènes.

Plan de l'étude

L'objectif de cette étude est double :

- Dans un premier temps, rechercher et analyser les données disponibles concernant la présence et le devenir des produits pharmaceutiques en relation avec le traitement des eaux usées. Il s'est agi de recueillir des informations et créer une base de données sur ces composés (source, consommation, concentration dans les eaux usées et les effluents des stations d'épuration d'eaux usées, propriétés, processus de dégradation physique et/ou biologique, risque, dose limite, etc.). Ces informations sont très dispersées et il est difficile de trouver des relations entre elles. Le traitement et l'analyse de la base de données constituée ont été réalisés avec une attention particulière portée aux antibiotiques.
- Etudier l'effet d'un représentant important de ces composés (antibiotique) sur les boues activées (étape expérimentale). Pour ce faire, des tests de toxicité "aigue" ont été conduits au laboratoire dans des réacteurs discontinus parfaitement agités avec ajout de deux antibiotiques de type macrolide (érythromycine, tylosine) à différentes doses.

Le premier chapitre de ce mémoire présente l'étude bibliographique, la base de données créée sous MS Access regroupant les informations de plus de 70 publications internationales et les résultats des analyses de cette base de données. Après une présentation des principes de l'épuration des eaux usées, nous nous intéresserons au traitement par boues activées et au processus de nitrification. Par la suite, des informations sur la présence des polluants secondaires et notamment des composés pharmaceutiques dans les systèmes d'épuration des eaux usées seront présentées. Une

attention particulière est accordée aux antibiotiques de type macrolide (comme l'érythromycine et la tylosine). Enfin, une analyse de l'ensemble des informations rassemblées sous forme d'une importante base de données est proposée : médicaments les plus consommés en Europe, présence et devenir de certains groupes de médicament dans les STEP, présence des antibiotiques et notamment de l'érythromycine dans les STEP et élimination des composés médicaux dans les procédés de traitement des eaux usées.

Dans le deuxième chapitre les matériels et méthodes employées pour la réalisation de la partie expérimentale de ce travail sont présentés : informations sur les deux principales stations d'épuration dans lesquelles les boues ont été prélevées, appareillages de laboratoire et substances utilisées au cours des expérimentations, méthodes analytiques et appareils de mesure.

Le troisième et dernier chapitre est consacré aux résultats expérimentaux et à leur discussion : l'effet de l'érythromycine et de la tylosine sur les différentes étapes de l'élimination d'azote est présenté. En parallèle, on a étudié le changement de la structure des floccs de boues activées par analyse de microphotographies. Finalement, afin de modifier la structure des floccs, l'effet de l'ajout de coagulants a été examiné.

CHAPITRE 1

Revue bibliographique

Ce premier chapitre est divisé en quatre parties. La première partie (1.1) est une revue rapide concernant l'épuration des eaux usées et le traitement par boues activées. Nous y expliquons assez largement la bactériologie du système à boues activées.

La deuxième partie (1.2) est consacrée à la nitrification et à la transformation de l'azote dans les stations d'épuration des eaux usées. Nous discutons des réactions du processus de nitrification, des bactéries nitrifiantes et des facteurs influençant cette étape de traitement.

Ensuite la troisième partie (1.3) traite des polluants secondaires et de leur présence dans les stations d'épuration. Après une discussion sur les composés organiques et inorganiques, nous étudions la présence des composés pharmaceutiques dans les systèmes d'épuration des eaux usées. Nous avons créé une base de données sur la consommation, les risques et la toxicité des composés médicaux et sur les méthodes analytiques pour leur détection. Nous présentons plus spécifiquement certaines substances pharmaceutiques telles que les antibiotiques (en particulier l'érythromycine et la tylosine, les deux macrolides utilisés dans la partie expérimentale) et les hormones.

Enfin la dernière partie (1.4) présente l'analyse de la base de données : médicaments les plus consommés en Europe et aux Etats-Unis, présence et devenir de certaines substances pharmaceutiques dans les STEP.

1.1 Epuration des eaux usées

Le traitement biologique des eaux usées concerne l'élimination de la matière organique (MO) et des nutriments (azote, phosphore) par des bioprocédés qui reprennent, de façon intensive, le principe de l'auto-épuration.

1.1.1 Auto-épuration

C'est un processus biologique naturel par lequel les polluants organiques vont être dégradés sous l'effet de microorganismes naturellement présents dans le milieu récepteur. Son importance dépend de ces micro-organismes (bactéries, algues), des possibilités d'oxygénation, de la température et de la lumière. Après un rejet d'eaux usées dans une rivière, ils se développent en consommant les matières biodégradables et l'oxygène. Au fur et à mesure de l'écoulement vers l'aval, il y aura de moins en moins de matières biodégradables dans la rivière et donc de moins en moins de consommation d'oxygène par les décomposeurs. Il arrivera finalement un endroit où l'oxygène reviendra à une valeur semblable à celle observée avant le rejet de pollution (si la longueur du cours d'eau est suffisante).

1.1.2 Station d'épuration des eaux usées par boues activées

Dans une usine de traitement des eaux usées, il existe plusieurs niveaux de traitement (figure 1.1) :

- Le relevage et le prétraitement,
- Le traitement primaire pour éliminer une grande partie des matières solides en suspension (cette étape est facultative)
- Le traitement biologique pour éliminer la pollution organique et les nutriments par des procédés biologiques,
- Le traitement tertiaire, pour améliorer la qualité de l'effluent (par exemple élimination de la couleur, du phosphore résiduel, de la DCO dissoute non biodégradable, des matières en suspension, etc.).

Les traitements appliqués dépendent du degré de pollution des eaux mais aussi des exigences de qualité du milieu récepteur (zone de baignade, de pêche, d'aquaculture...).

- *Le relevage*

Dans la majorité des STEP, on a besoin de construire une station de relèvement, parce que les eaux usées collectées arrivent à un niveau plus bas que les installations de traitement. Le relèvement des eaux s'effectue grâce à des pompes centrifuges ou à des vis d'Archimède.

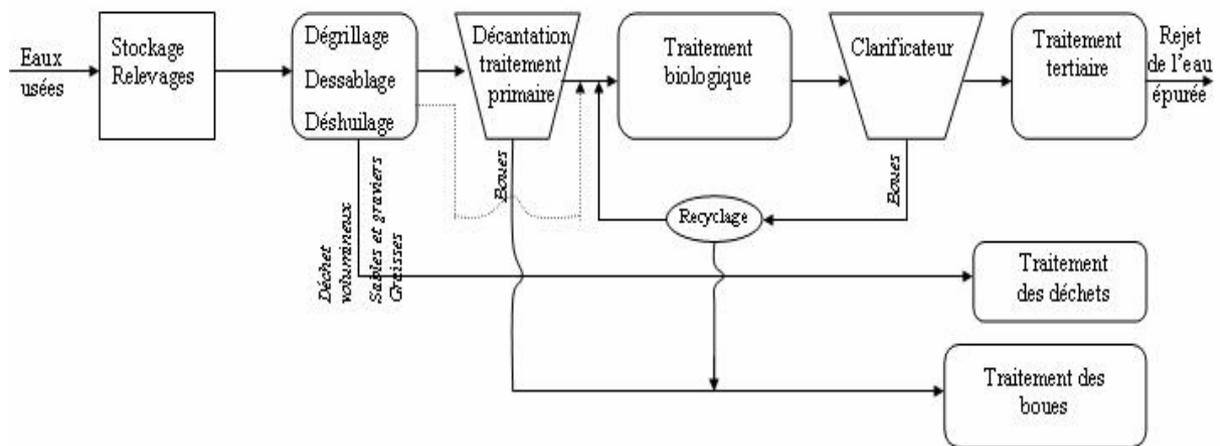


Figure 1.1 : Schéma classique de la station d'épuration

- Les prétraitements

Les prétraitements ont pour objectif d'éliminer des éléments qui sont susceptibles de gêner les traitements ultérieurs et d'endommager les équipements.

Il s'agit :

- Des déchets volumineux (dégrillage)
- Des sables et graviers (dessablage)
- Des huiles (dégraissage, déshuilage)

Pour éliminer les déchets volumineux, les eaux usées passent au travers d'une grille dont les barreaux, plus ou moins espacés, retiennent les matières de taille supérieure à l'espacement. Pour compléter l'élimination des déchets on emploie le tamisage, qui utilise des grilles de maille réduite. Au cours du dessablage on élimine des sables et des graviers par sédimentation. Pour cela, la vitesse de l'écoulement de l'eau est réduite dans un bassin appelé « dessableur » entraînant leur dépôt au fond de l'ouvrage. Les sables récupérés sont lavés, essorés avant d'être soit envoyés en décharge, soit réutilisés, selon la qualité du lavage.

L'élimination des graisses s'effectue par injection d'air au fond de l'ouvrage, ce qui produit une émulsion. Cette émulsion remonte en surface. Ces graisses sont alors raclées, puis stockées avant d'être incinérées ou hydrolysées et renvoyées dans le circuit de traitement des eaux usées.

- Le traitement primaire

Le traitement primaire est utilisé pour l'élimination d'une partie des matières en suspension (MES). Il fait appel à des procédés physiques ou bien physico-chimiques tels que la coagulation-floculation. On peut mettre en oeuvre plusieurs types de flocculateurs (à barrières ou à hélice) et de décanteurs (décanteurs circulaires, rectangulaires ou lamellaires). Le traitement primaire élimine en général 50 à 60% des MES. Par coagulation et floculation dans des décanteurs lamellaires, on peut éliminer jusqu'à 90% des MES (CIEAU, 2006)

- Les traitements biologiques

Les traitements biologiques correspondent à l'élimination biologique des matières polluantes. Parmi les procédés biologiques l'épuration par boues activées est la méthode la plus commune pour les installations de grande taille. Elle est utilisée depuis le début du XX^e siècle (en 1916 à Manchester). Ce procédé consiste à mettre en contact dans un réacteur biologique aéré des effluents chargés en polluants avec une biomasse épuratrice. Il se compose essentiellement d'un système d'aération, d'un clarificateur et d'un système de recirculation et d'extraction des boues (figure 1.2).

a. Le bassin d'aération

Dans le bassin d'aération, les bactéries se trouvent en suspension sous forme de floccs bactériens formant un écosystème complexe avec les autres microorganismes (protozoaires et métazoaires). C'est dans ce bassin que se produit la biodégradation de la matière organique par les microorganismes. Un système de brassage et d'oxygénation fournit l'oxygène pour les réactions biologiques, maintient les boues en suspension et assure un bon contact entre l'eau et les microorganismes.

b. La clarification (décantation secondaire)

À l'issue de la réaction biologique, une ultime décantation permet de séparer l'eau épurée et les floccs bactériens (boues). Cette décantation est opérée dans un clarificateur (ou décanteur secondaire). Le bon fonctionnement du clarificateur est essentiel pour le processus d'épuration des eaux usées par voie biologique. Il combine les fonctions d'épaississeur (qui produit un flux concentré de floccs pour alimenter le bassin d'aération), de clarificateur (qui crée un surnageant clair avec une faible concentration de matières en suspension) et aussi de réservoir de boues.

c. Le système de re-circulation des boues

Dans le procédé par boues activées, une grande partie des boues sédimentées (~97%) retourne en tête du bassin d'aération de façon à y maintenir une concentration en biomasse stable et suffisante. Le reste (~3%) sera extrait (boues en excès) et traité spécifiquement par la suite avec les boues produites dans l'étape du traitement primaire (traitement des boues).

- Le traitement des boues

Le traitement d'un mètre cube d'eaux usées produit 350 à 400 grammes de boues. En France la production de boues s'est élevée 1,2 million de tonnes en 2002 (VIETECH, 2003).

Les principales techniques utilisées pour le traitement des boues sont les suivantes : déshydratation et épaissement ; digestion anaérobie ; compostage ; séchage ; incinération ; co-incinération avec les ordures ménagères.

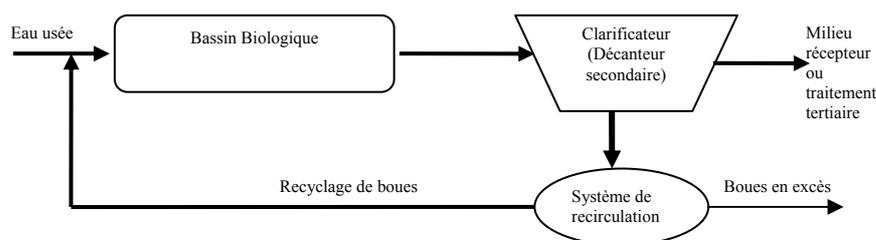


Figure 1.2 : Procédés par boues activées

- *Le traitement tertiaire*

Le traitement tertiaire des eaux usées intervient après le traitement secondaire ou biologique. Il est utilisé pour améliorer les caractéristiques de l'effluent. Selon le niveau de sensibilité du milieu récepteur ou la réutilisation envisagée, on peut faire usage de (Degrémont, 1989) :

- techniques d'affinage telle que la filtration biologique (pour l'élimination de la DBO₅ ou des MES),
- déphosphatation chimique,
- traitement tertiaire de l'azote (s'il n'est pas réalisé suffisamment dans les étapes précédentes),
- élimination de la DCO non biodégradable,
- désinfection (traitement par UV ou ozone).

1.1.3 Composants biologiques du système à boues activées

Les bactéries, les protozoaires, et certains métazoaires tels que les rotifères ou les nématodes sont les principaux composants biologiques de la boue activée. La flore bactérienne des boues activées contient principalement des microorganismes hétérotrophes capables de dégrader les matières organiques et azotées (sous forme de nitrates). La présence d'oxygène est indispensable à leur action, qu'il soit fourni par un système d'aération ou disponible dans une forme oxydée (nitrites, nitrates). Les boues activées contiennent également des bactéries autotrophes utilisant le carbone minéral des bicarbonates et du CO₂ comme source de carbone. Les microorganismes forment un mélange intime avec l'eau à traiter et ainsi ils sont bien en contact avec les polluants des eaux résiduelles.

1.1.3.1 Bactéries

Les bactéries constituent la majorité des micro-organismes présents dans les boues activées. Ce sont des organismes unicellulaires, caractérisés par une structure particulière. On peut les classer en fonction de la source carbonée qu'ils consomment :

- les bactéries hétérotrophes qui utilisent la matière organique comme source de carbone et comme source énergétique pour leur métabolisme.
- les bactéries autotrophes utilisant le carbone minéral des bicarbonates et du CO₂ comme source de carbone.

L'élimination de l'azote se fait par les bactéries nitrifiantes (autotrophes) qui transforment l'azote ammoniacal en nitrates, lesquels sont ensuite réduits en azote gazeux par les bactéries hétérotrophes en situation anoxique. Nous développerons cet aspect plus en détail dans la partie 1.2.

- Schéma général d'une bactérie

- *La paroi*

La paroi bactérienne est un élément de la structure bactérienne présent chez toutes les bactéries (sauf les *Mycoplasmes*). Il assure la forme des bactéries. Les parois cellulaires des bactéries sont constituées de peptidoglycane, qui est composé par des chaînes de polysaccharides reliées entre elles par des peptides contenant des acides aminés. Cette chaîne est faite de l'alternance de N-acétyl-glucosamine et d'acide N-acétyl-muramique.

La composition de la paroi n'est pas la même d'un groupe de bactéries à l'autre. Il existe deux classes principales : Gram négatif (G⁻) et Gram positif (G⁺). Les noms proviennent de la

réaction des cellules à la coloration de Gram, une méthode longtemps employée pour la classification d'espèces bactériennes.

La méthode de coloration de Gram est nommée d'après son inventeur, le scientifique danois Hans Christian Gram (1853-1938). C'est une méthode simple qui est basée sur les propriétés et les structures biochimiques des parois cellulaires. La paroi des bactéries Gram⁻ possède une épaisse couche de peptidoglycane (figure 1.4). La paroi des bactéries Gram⁺ possède une fine couche de peptidoglycane (figure 1.3). Lors de l'application du protocole de coloration de Gram, à partir de solutions de cristal violet et de safranine, l'éthanol peut traverser la paroi des bactéries qui est fine et lipidique. Donc des bactéries Gram⁺ apparaissent en bleu alors que les bactéries Gram⁻ sont colorées en rose.

- *La membrane cytoplasmique*

Elle est située sous la paroi et est constituée d'une double couche de phospholipides dans laquelle se trouvent insérées de nombreuses molécules (protéines, glycoprotéines, glycophospholipides etc....) (figure 1.5).

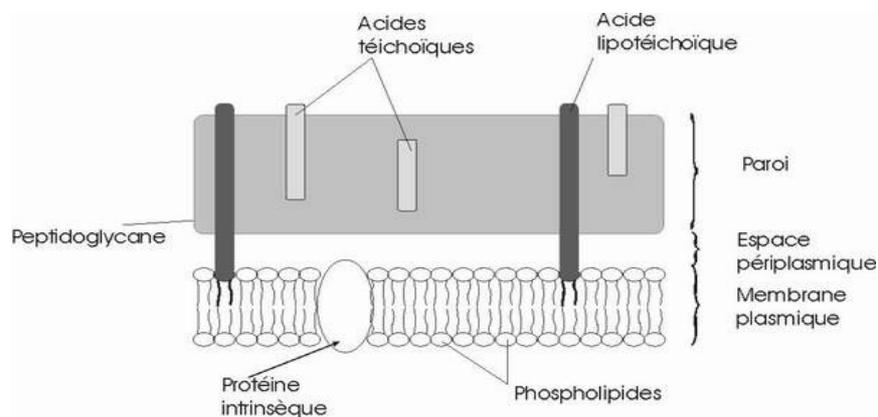


Figure 1.3 : Paroi et membrane des bactéries à Gram⁺ (GENIEBIO, 2006)

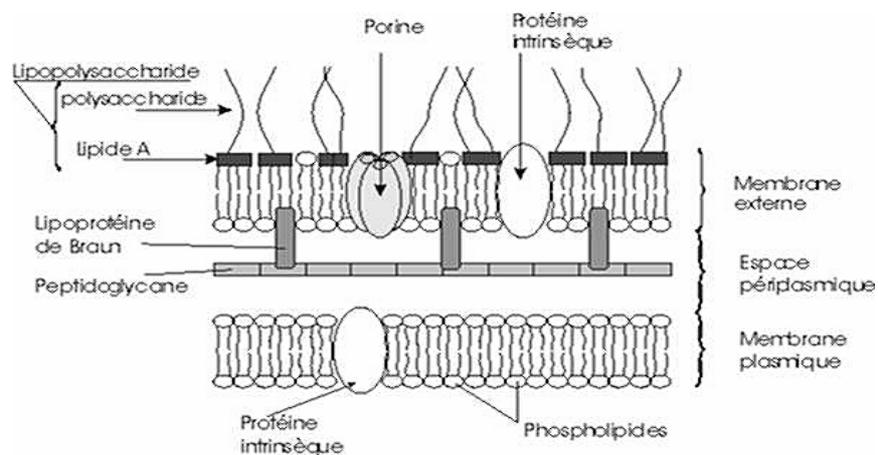


Figure 1.4 : Paroi et membrane des bactéries à Gram⁻ (GENIEBIO, 2006)

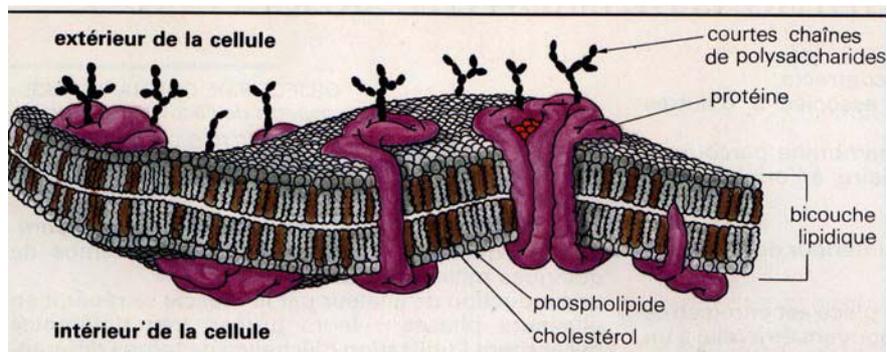


Figure 1.5 : Représentation de la membrane cytoplasmique (Chevrier, 2006)

La membrane cytoplasmique sépare l'intérieur de la cellule du milieu extracellulaire. La membrane est perméable. Elle permet ou non le passage de l'eau, des gaz dissous comme le dioxyde de carbone et l'oxygène, des molécules solubles de lipide etc. Des ions hydrosolubles passent généralement par de petits pores - moins de 0,8 nm de diamètre - dans la membrane. Ces passages à travers la membrane cytoplasmique se font par deux types de diffusion : par la diffusion passive (comme la phénomène d'osmose ou de la diffusion facilitée), et par la diffusion active. Les autres fonctions de la membrane cytoplasmique sont la production d'énergie, la mobilité (par l'intermédiaire des flagelles qui y sont fixées), le rejet de résidus et la formation d'endospores.

- Les autres éléments

Dans la structure bactérienne on distingue d'autres éléments qui sont classifiés en deux groupes : des éléments obligatoires (tels que le cytoplasme) et des éléments facultatifs. Le cytoplasme est une substance colloïdale qui remplit la cellule. Il contient du cytosol et des organites. Il est composé par l'eau (environ 80%), des sels, des molécules organiques et beaucoup d'enzymes qui catalysent les réactions biologiques. Le cytoplasme joue un rôle important dans la fonction cellulaire comme la glycolyse anaérobie et la synthèse protéique. Parmi des éléments facultatifs on peut mentionner des flagelles sont responsables de la mobilité de bactéries.

▪ Les principaux groupes de bactéries dans les STEP à boues activées

Dans les STEP à boues activées on trouve un grand nombre de bactéries libres, filamenteuses ou non, et floculées. Cette microflore représente 10^{11} à 10^{12} bactéries par litres de boues activées (*Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*...).

- Les bactéries floculées et filamenteuses

Les bactéries floculées et filamenteuses dégradent les composés organiques et participent à la formation des floccs bactériens. En plus les bactéries filamenteuses ont deux aspects positifs importants : elles forment un réseau rigide pour soutenir la structure des floccs et elles aident à filtrer les matières particulaires fines.

Cependant les bactéries filamenteuses (figure 1.6) peuvent avoir des aspects négatifs. Si elles sont présentes en excès, elles peuvent interférer avec la décantabilité de la boue activée et causer un problème de foisonnement ou « bulking filamenteux ».

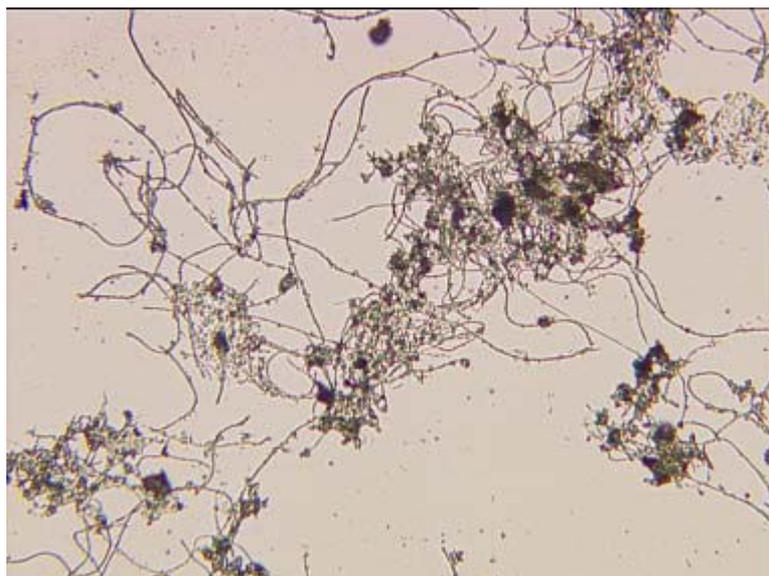


Figure 1.6 : Bactéries filamenteuses

Les bactéries filamenteuses les plus courantes sont :

Microthrix parvicella : c'est une bactérie Gram⁺ que l'on trouve de manière importante en Europe, lors des phénomènes de dysfonctionnement (bulking et moussage biologique¹) (Westlund et al., 1996 ; Hwang et Tanaka, 1998).

Nocardia spp : c'est une bactérie Gram⁺ qui joue un rôle important dans la formation et la stabilisation du moussage biologique.

Sphaerotilus natans : c'est un des principaux agents (Gram⁻) du bulking filamenteux. La croissance excessive de *Sphaerotilus natans* est généralement due à une faible concentration en oxygène ou à une carence en nutriments (azote, phosphore...) (Richard, 1989).

D'après Soddell et al. (1996), la croissance de *Nocardia spp* peut être facilitée par l'excès de substrats hydrophobes (acides gras) par rapport aux substrats hydrophiles comme le glucose. La bactérie supporte des carences en azote et phosphore. Ces actinomycètes sont considérés comme des germes aérobies stricts et ne peuvent se développer sans oxygène (G.I.S Mousses, 1993).

- Les bactéries nitrifiantes et dénitrifiantes

On les trouve dans le sol et le milieu aquatique. Elles sont exclusivement aérobies, autotrophes et Gram⁻. Les bactéries nitrifiantes se répartissent en deux groupes :

- Les bactéries nitritantes oxydent l'ammonium en nitrites.
- Les bactéries nitratantes oxydent les nitrites en nitrates.

Les bactéries nitrifiantes sont cultivées dans des environnements riches en ammonium où une décomposition progressive de protéines est assurée. Nous expliquons leur réaction en détail dans la partie 1.2.2.

Contrairement à la nitrification, la dénitrification microbienne est une réaction réservée à un petit nombre d'espèces de bactéries aérobies facultatives hétérotrophes hautement spécialisées. Les produits résultants de la réduction des nitrites et des nitrates sont l'azote moléculaire N₂ ou, en faible concentration et suivant le pH du milieu, les gaz NO et N₂O. Il s'agit d'une respiration de nitrates ou de nitrites pour laquelle tout substrat utilisable fournit la source d'électrons, que ce substrat provienne du milieu extérieur (dénitrification exogène) ou

¹ Le moussage est causé par un développement excessif de bactéries filamenteuses présentant une faible surface hydrophile.

intérieur (dénitrification endogène). Les principales bactéries assurant la dénitrification sont : *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Thiobacillus* et *Pseudomonas*.

Les bactéries responsables de la déphosphatation

Selon Wagner et al. (2002) les bactéries impliquées dans l'élimination de phosphore sont répertoriées en deux grandes familles.

Les **PAO (Polyphosphate Accumulating Organisms)** : ces microorganismes utilisent de l'énergie issue de l'hydrolyse des phosphates et consomment les orthophosphates en condition aérobie en hydrolysant les PHA (polyhydroxyalkanoates). Les principales bactéries dans ce groupe sont : *Acinetobacter spp*, β - *Proteobacteria*, *Actinobacteria* et *Rhodocyclus*. D'après Seviour et al. (2003), parmi les espèces bactériennes responsables du phénomène de déphosphatation biologique, le genre *Acinetobacter spp* est plus courant. Ce genre de bactérie est un coccobacille aérobie strict, Gram⁻, utilisant comme substrat carboné l'acétate, l'éthanol et le succinate mais en aucun cas le glucose et le lactose.

Les **GAO (Glycogen Accumulating Organisms)** : ces microorganismes peuvent consommer du glucose et stocker des PHA grâce à l'hydrolyse du glycogène. On recense de manière générale parmi ces bactéries, les *Gammaprotéobactéria* et les *G-Bacteria*.

1.1.3.2 Microorganismes plus évolués

Dans le bassin d'aération d'une STEP, il y a aussi d'autres microorganismes que les bactéries. Deux familles principales de ces microorganismes sont :

- Les protozoaires (les *Flagellés*, les *Ciliés* et les *Amibes*).
- Les métazoaires (essentiellement deux familles : les *nématodes* et les *rotifères*).

Ils jouent un rôle très important dans les STEP et contribuent à l'équilibre de cet écosystème.

Les deux rôles principaux des protozoaires sont de :

- réduire la turbidité (et en conséquence les MES) par prédation des bactéries libres,
- se nourrir des certaines bactéries pathogènes, telles que *E. coli*.

1.1.3.3 Structure des floccs bactériens

Les bactéries présentes dans les réacteurs biologiques s'agglomèrent sous forme de floccs. Ces floccs bactériens se forment par pontage cellules-exopolymères (EPS)-cations (Urbain et al., 1992) ou par interaction physique (Massé, 2004).

Selon la littérature (Lasbidou et al., 2001), on peut classer les EPS en deux parties : les EPS_{liés} (polymère extra-cellulaire) correspondent aux exopolymères présent au sein des floccs, et les EPS_{Solubles} correspondent aux polymères de surnageant. Le terme EPS définie à l'ensemble des polymères du milieu biologique c'est-à-dire EPS_{liés} plus EPS_{Solubles}.

Les EPS peuvent représenter jusqu'à 60% (en masse) de la fraction organique d'une boue (Frouland et al., 1996). Les EPS produits par les bactéries peuvent se trouver sous deux formes :

- sous forme de matériel visqueux ou mucilage,
- sous forme de capsule ou micro-capsule.

La composition des EPS varie en fonction de l'origine et de la composition des boues et des eaux usées ainsi que des procédés d'épuration (Urbain, 1992 ; Bura et al., 1998 ; Durmaz et al., 2001).

Les composantes des EPS_{liés} et leurs origines sont :

- les polysaccharides qui sont constitués par des hexoses, des sucres aminés, des pentoses et des acides uroniques (Dignac, 1998),

- les protéines exocellulaires (Dignac, 1998 et Bura et al., 1998). Ce sont des polymères d'acides aminés,
- les acides nucléiques (ADN et ARN). Ils peuvent être l'indice d'une importante lyse cellulaire,
- les substances humiques qui peuvent se trouver dans les eaux usées.

De façon générale tous les paramètres qui interfèrent sur la croissance bactérienne, peuvent influencer la production d'EPS :

1- La composition de l'eau usée : Les effluents industriels difficilement biodégradables (comme les effluents textiles) ont une valeur faible d'exopolymère (Massé, 2004). Cela signifie qu'il existe un rapport entre les concentrations en EPS_{liés} et la fraction de substrat facilement biodégradable.

Parmi les compositions de l'eau usée on indique l'effet du rapport DCO/NH₄ : tandis que ce rapport augmente, la proportion de protéines par rapport à celle des polysaccharides diminue. Deux travaux (Bura et al., 1998 et Durmaz et Sanin, 2001) montrent que la quantité relative de protéines (EPS) diminue en cas d'une diminution de la concentration d'azote, et sous limitation d'azote (DCO/NH₄ > 20).

2- La concentration en oxygène.

3- Les paramètres d'opération comme l'âge de boue.

4- Les effets des toxiques qui vont directement perturber la lyse de cellule et donc la libération de polymère.

Les propriétés de surface des floccs sont la charge de surface et l'hydrophobicité qui évoluent en sens inverse. En règle générale la diminution de la charge de surface ou l'augmentation de l'hydrophobicité d'un flocc améliore la floculation et la décantation (Urbain et al., 1993 et Liao et al., 2001). Tous les paramètres influant sur la concentration en exopolymère (concentration en oxygène dissous, type de substrat, type de procédé, etc.) agissent également sur l'hydrophobicité. Parmi eux, on peut citer qu'une augmentation du rapport DCO/NH₄ (c'est-à-dire une carence en azote) cause une diminution de la charge de surface des floccs (Bura et al., 1998 et Shufang, 2004)).

1.2 Nitrification

1.2.1 Cycle de l'azote

L'atmosphère est la principale source d'azote, sous forme de diazote (N₂), gaz relativement inerte, puisqu'elle en contient 78 % en volume. Les organismes ont besoin d'azote pour synthétiser des protéines et des acides nucléiques, mais la plupart ne peuvent utiliser directement la molécule N₂. Ils ont besoin d'azote fixé dans lequel les atomes d'azote sont liés à d'autres types d'atomes comme par exemple l'hydrogène dans l'ammoniac NH₃ ou l'oxygène dans les ions nitrates NO₃⁻. La figure 1.7 présente un schéma simplifié du cycle de l'azote.

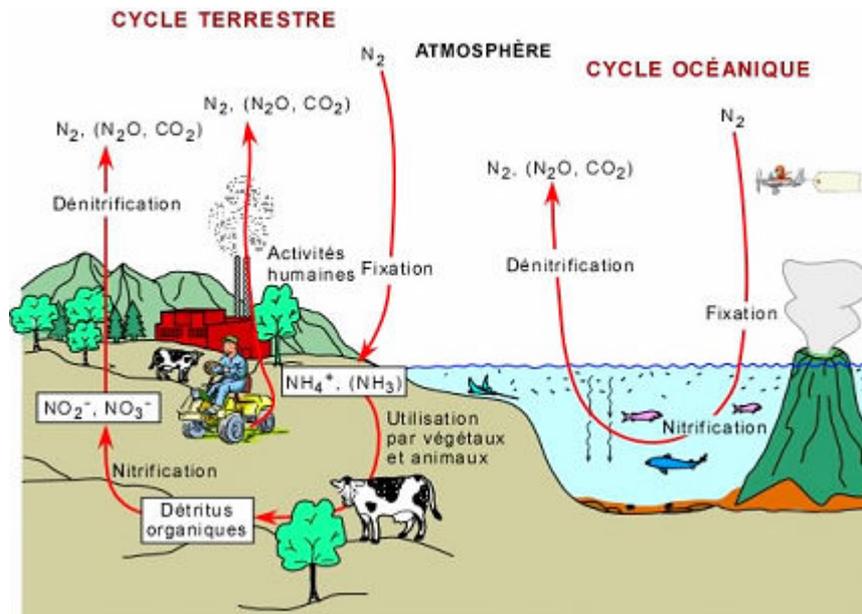


Figure 1.7 Cycle de l’azote (Bourque, 2004)

1.2.2 Nitrification en STEP

1.2.2.1 Sources d’azote dans les eaux usées

D’après la littérature chaque personne produit 13,3 g d’azote par jour qui sont rejetés dans les égouts (Hellström, 2003 ; Günther, 2000). La majeure partie de cet azote provient de l’urine (80%), des matières fécales (13%) et des eaux grises² (7%). L’azote est présent dans les eaux usées sous des formes organique et inorganique (tableau 1.1) :

- organique, sous forme $-NH_2$ contenu dans l’urée et les protéines
- inorganique, sous différentes formes : principalement azote ammoniacal (NH_4^+), et une faible quantité de nitrite (NO_2^-) et de nitrate (NO_3^-).

Forme de l’azote	Concentration élevée (mg/l)	Concentration moyenne (mg/l)	Concentration faible (mg/l)
Azote total	80	50	20
Azote ammoniacal ¹	50	30	12
Nitrite	0,1	0,1	0,1
Nitrate	0,5	0,5	0,5
Azote organique	30	20	8
Azote Kjeldahl (NTK) ²	80	50	20

Notes :

1- $NH_3+NH_4^+$

2- Azote organique + azote ammoniacal

Tableau 1.1 : Différentes formes de l’azote et leur concentration dans les eaux usées domestiques (d’après Henze et al., 2000)

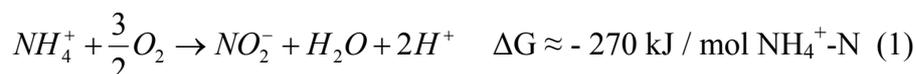
² L’eau grise est définie comme étant l’eau issue des usages domestiques (lavage, préparation des aliments) sauf celle provenant des toilettes.

L'azote est nécessaire à la nutrition bactérienne dans le traitement biologique des eaux usées. D'autre part, il est nécessaire de diminuer très fortement la concentration en azote des rejets de STEP afin d'éviter l'eutrophisation³ du milieu récepteur.

1.2.2.2 Réactions du processus de nitrification

Le processus de nitrification se fait en deux principales étapes :

I. Nitritation



Cette réaction se produit elle-même en deux sous-étapes: ammonium \rightarrow hydroxylamine (catalysée par l'ammonium monooxygénase (AMO)) et hydroxylamine \rightarrow nitrite (catalysée par l'hydroxylamine oxydoréductase (HAO)).

II. Nitratisation



catalysée par la nitrite oxydoréductase (NOR).

L'énergie produite par l'oxydation est utilisée pour la croissance bactérienne via l'assimilation de la source de carbone (réduction du CO_2). La synthèse de la biomasse peut se décrire à l'aide de la réaction (3) :



Si on choisit comme formule représentative de la composition bactérienne $C_5H_7NO_2$, les réactions (1), (2) et (3) peuvent être ré-écrites.

Ainsi le processus complet de nitrification est décrit comme suit (Qasim, 1998) :



La consommation d'oxygène s'élève à 4,2 mg d' O_2 pour chaque mg de NH_4^+-N converti en $NO_3^- -N$.

De plus, d'après la réaction (4), 1 mg/l de NH_4^+-N converti en nitrate produit environ 0,17 mg/l de biomasse de bactéries nitrifiantes.

D'après la littérature, le coefficient de rendement cellulaire pour les bactéries nitritantes est plus grand que pour les bactéries nitratantes.

1.2.3 Aspects microbiologiques

1.2.3.1 Bactéries nitritantes

La réaction de nitritation, liée aux synthèses cellulaires, rend compte de l'action de groupes de bactéries chimiolithoautotrophes⁴ sur l'ammonium. Les bactéries nitritantes sont aérobies strictes et tirent leur énergie de l'oxydation de l'ammonium.

Seize bactéries nitritantes ont été détectées et présentées très largement (Juretschko et al., 1998). Elles appartiennent toutes au groupe des protéobactéries (*Proteobacteria*). Les protéobactéries sont un groupe très important de bactéries, qui inclut également des bactéries

³ Ensemble de processus bio-géochimiques liés à un enrichissement des eaux en éléments nutritifs. Cet enrichissement se traduit par l'accroissement des biomasses végétales et animales conduisant à l'appauvrissement critique des eaux en oxygène.

⁴ Micro-organisme qui oxyde les molécules inorganiques avec production d'énergie chimique (ATP) et utilise le CO_2 comme seule ou principale source de carbone.

pathogènes, telle que *Escherichia*, *Salmonella* et *Vibrio*. Les protéobactéries sont de type Gram négatives.

Parmi les bactéries nitrifiantes et dans la sous-classe γ des protéobactéries (figure 1.8) on peut citer *Nitrosococcus oceanus* (les souches C-107 et C-27) et *N. halophilus*. Egalement dans la sous-classe β , on peut indiquer (figure 1.9) *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus mobilis*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* et *Nitrosovibrio*. Les bactéries responsables de la nitrification appartiennent généralement aux genres *Nitrosomonas* (Suwa et al., 1994) et *Nitrosococcus* (Juretschko et al., 1998).

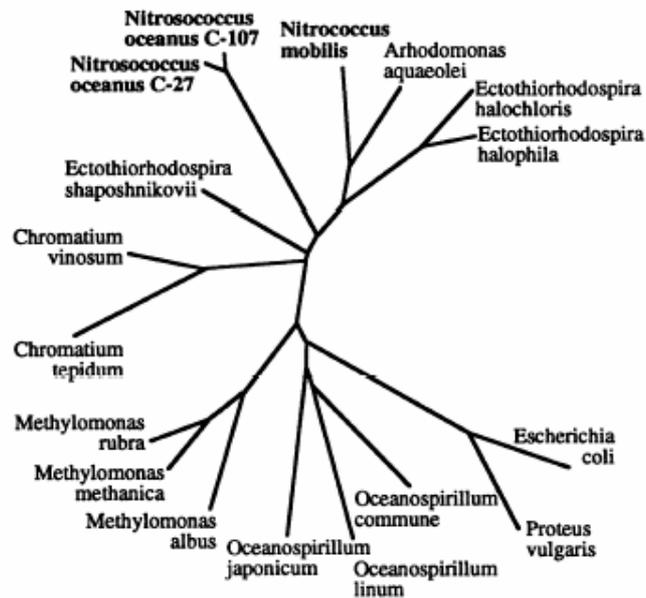


Figure 1.8 : Arbre phylogénique de γ -protéobactéries (Teske et al., 1994)

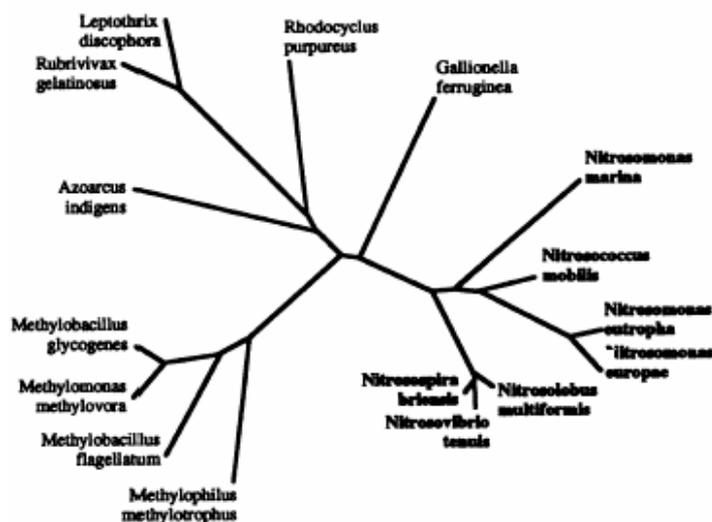
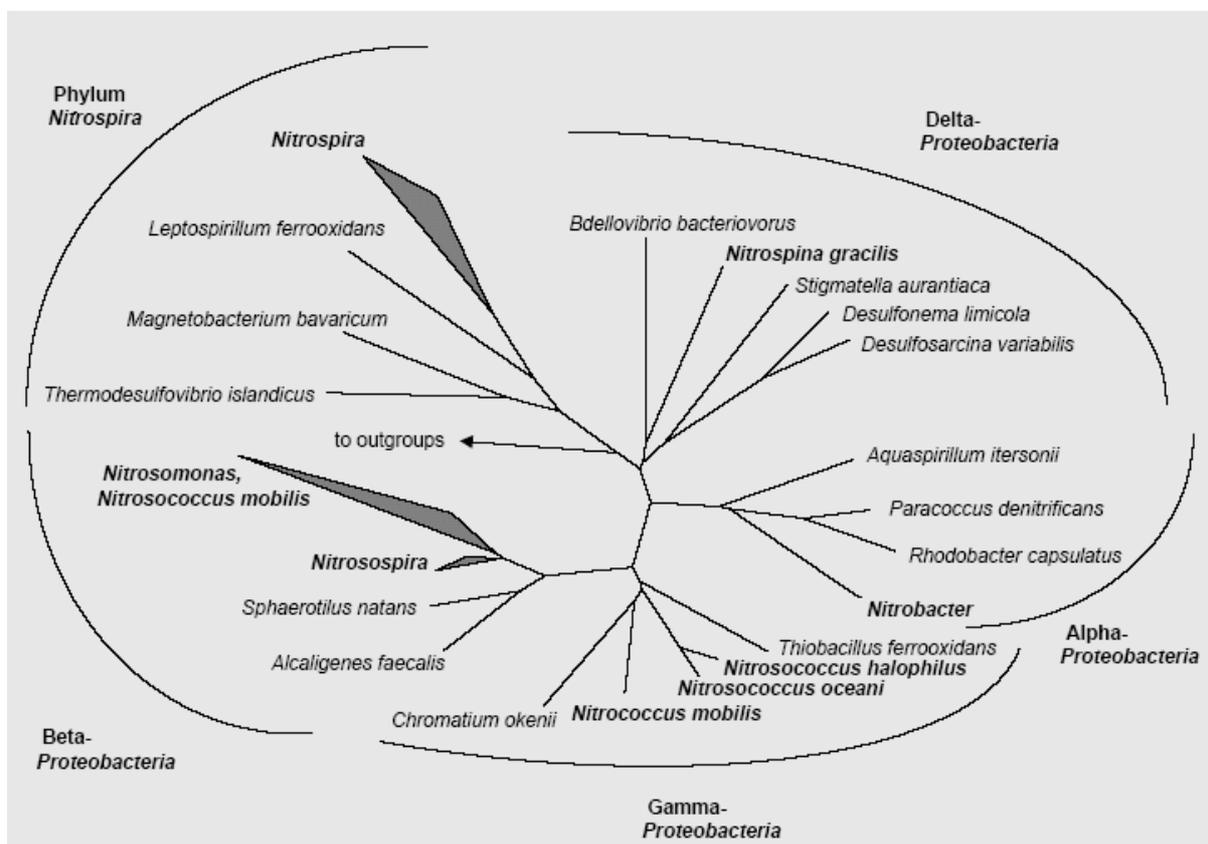


Figure 1.9 : Arbre phylogénique de β -protéobactéries (Teske et al., 1994)

1.2.3.2 Bactéries nitratantes

Le deuxième groupe de bactéries nitrifiantes rassemble les bactéries nitratantes. Parmi elles, on note les α -protéobactéries (e.g *Nitrobacter*), les δ -protéobactéries (e.g *Nitrospina gracilis*), les γ -protéobactéries (e.g *Nitrococcus mobilis*) (figure 1.10). Un autre embranchement des bactéries nitratantes est le genre *Nitrospira* que l'on peut trouver dans différents milieux. Il est composé de trois principaux genres : *Leptospirillum*, *Thermodesulfovibrio* et *Magnetobacterium* dont l'espèce *Magnetobacterium bavaricum* (Ehrich et al., 1995). *Nitrospina* et *Nitrococcus* sont obligatoirement des bactéries halophiles et marines (Daims, 2001).

Parmi les bactéries nitratantes la seule qui utilise des molécules organiques comme source d'énergie (hétérotrophe) est *Nitrobacter* (Burrell et al., 1998). D'après la littérature, les bactéries responsables de la nitratisation dans le traitement des eaux usées appartiennent principalement aux genres *Nitrobacter* (Burrell et al., 1998) et *Nitrospira* (Juretschko et al., 1998).



Note :

1- *Nitrosospira* rassemble *Nitrosolobus* et *Nitrosovibro*.

2- Les noms des nitrifiantes sont en gras.

Figure 1.10 : Arbre phylogénétique de bactéries nitrifiantes (Daims, 2001)

1.2.4 Facteurs influençant la nitrification

1.2.4.1 Paramètres physico-chimiques

La température

La nitrification se produit entre 4 et 45 °C (U.S. EPA⁵, 1993). Pour un développement optimal des bactéries nitrifiantes, la température doit se trouver entre 35 et 42°C pour *Nitrobacter* et à 35°C pour *Nitrosomonas*. Les bactéries nitrifiantes sont très sensibles aux variations brusques de la température. L'installation des colonies ne peut se faire en-dessous de 8 à 10 °C, mais la nitrification complète de l'azote peut avoir lieu jusqu'à 5 °C (Lykiardopol et al., 1999). En-dessous, l'activité bactérienne cesse rapidement. *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* réagissent assez semblablement à la température, bien que *Nitrobacter* semble être plus fortement inhibé par des températures inférieures à 10 °C.

La croissance microbienne suit une cinétique de Monod vis-à-vis du substrat. On écrit alors la vitesse spécifique de croissance [j^{-1}] comme suit :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad (5)$$

où : S est la concentration de substrat, et K_s est la constante de demi-saturation (c'est-à-dire la concentration du substrat pour $\mu = \mu_{\max} / 2$) ; S et K_s sont exprimés en [mg/l].

μ et K_s augmentent avec la température. La relation entre K_s et la température pour *Nitrosomonas* dans une boue activée proposée par U.S. EPA est :

$$K_s = 10^{(0,051T - 1,158)}$$

La figure 1.11 montre l'effet de la température sur la vitesse maximum de croissance (μ_m) selon plusieurs travaux cités par Randall et al. (1992). On observe une grande variabilité entre les valeurs rapportées.

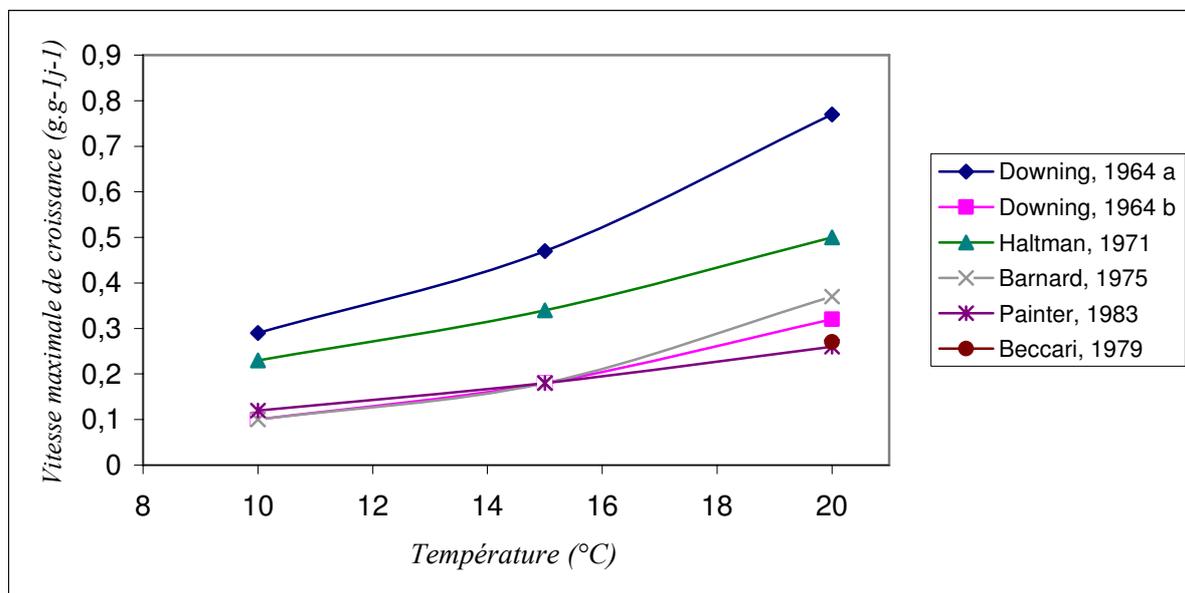


Figure 1.11 : Effet de la température sur la vitesse maximale de croissance (d'après Randall et al., 1992)

⁵ United States Environmental Protection Agency

L'oxygène dissous

L'oxygène joue un rôle limitant dans ce processus qui s'ajoute à celui du substrat. La croissance cellulaire suit alors une double cinétique de type Monod :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \frac{[O_2]}{K_{O_2,n} + [O_2]} - K_D \quad (6)$$

Où $K_{O_2,n}$ est la constante de demi-saturation et K_D est le taux de décès

La constante de demi-saturation pour le système à boues activées varie entre 0,43 et 2,0 mg/l. L'IWA⁶ a conseillé une valeur de 1,0 pour $K_{O_2,n}$ (IAWPRC, 1986). Il semblerait que l'activité des bactéries nitrifiantes soit plus affectée par une diminution de la quantité d'oxygène disponible que celle des bactéries nitritantes.

La concentration d'oxygène ne devrait pas être inférieure à 0,3 mg/l ni supérieure à 4,0 mg/l (pour des raisons d'économie d'énergie) (Stenstrom et al., 1980). D'après la littérature, une concentration minimum d'oxygène dissous de 2,0 mg/l est recommandée pour la nitrification (Qasim, 1998). L'effet de la concentration d'oxygène est d'autant plus marqué que d'autres conditions (charge organique ou température) sont défavorables (figure 1.12).

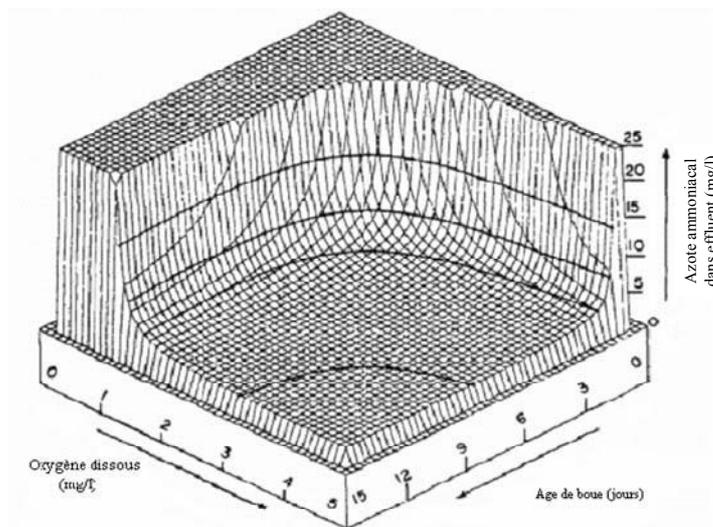


Figure 1.12 : Influence de l'oxygène dissous et de l'âge des boues sur l'élimination de l'azote ammoniacal (Stenstrom et al., 1980)

Note : Ce diagramme a été obtenu dans le cas d'un réacteur parfaitement agité en utilisant l'équation (5) avec les paramètres suivants : $\mu_{\max} = 0,02 \text{ hr}^{-1}$, $K_s = 1,0 \text{ mg l}^{-1}$, $K_{O_2,n} = 0,5 \text{ mg l}^{-1}$ et $K_D = 0,005 \text{ hr}^{-1}$.

⁶ International Association on Water Pollution Research and Control

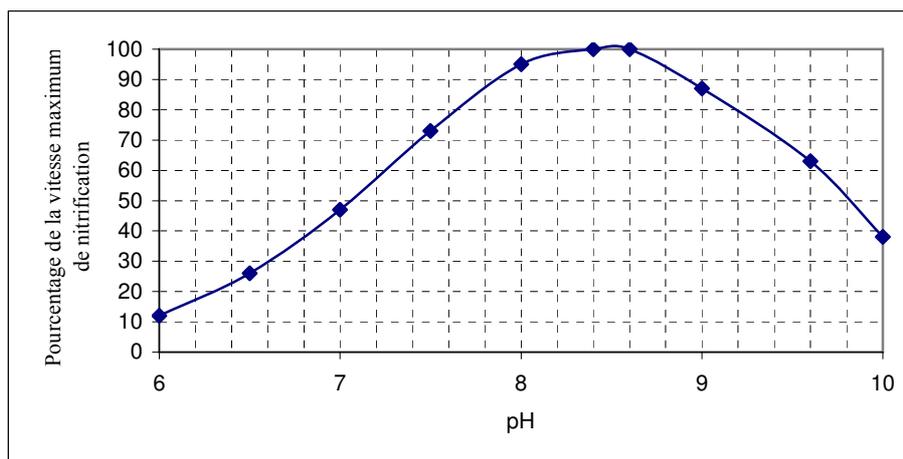


Figure 1.13 : Effet du pH sur la nitrification à 20 °C (d'après U.S. EPA, 1975)

Le pH

Une gamme de pH assez large a été observée pour la vitesse optimale de nitrification. D'après l' EPA (U.S. EPA, 1975) 90% de la nitrification se réalise entre pH=7,8 et pH=8,9, l'optimum se trouvant vers 8,4 (figure 1.13). Selon d'autres auteurs (Henze et al., 1997) la gamme optimale pour la nitrification se situe entre 8,0 et 9,0. D'autres auteurs enfin indiquent que le domaine favorable est compris entre 7,2 et 8,6 (Qasim, 1998). Un pH trop acide (inférieur à 6,0) inhibe totalement le processus. Il semblerait qu'un pH supérieur à 9,6 soit aussi drastiquement inhibiteur.

1.2.4.2 Effet des inhibiteurs

Les bactéries nitrifiantes sont facilement inhibées par des composés organiques ou inorganiques. Parmi les composés organiques inhibiteurs certains sont fréquemment utilisés dans les industries, comme le phénol ou le chloroforme. Le tableau 1.2 présente une liste de composés organiques industriels et les concentrations pour lesquelles ils inhibent la nitrification d'au minimum 50%. Selon Lykiardopol et al. (1999), les composés organiques ne seraient pas toxiques en eux-mêmes, mais auraient un effet négatif indirect par diminution d'oxygène due aux bactéries hétérotrophes.

Substance	Concentration de la substance causant au minimum 50% d'inhibition (mg/l)
<i>Aniline</i>	<1
<i>Dodecylamine</i>	<1
<i>Phénol</i>	17
<i>Chloroforme</i>	18
<i>Disulfure de carbone</i>	38
<i>Benzidine diHCl</i>	45
<i>Ethylènediamine</i>	47
<i>Hexaméthylène diamine</i>	85
<i>Triéthylamine</i>	127
<i>Diméthylgloxime</i>	140
<i>Monoéthanolamine</i>	<200
<i>Acétone</i>	2000
<i>Ethanol</i>	2400

Tableau 1.2 : Concentration de certains composés organiques industrielles, inhibiteurs de la nitrification (d'après U.S. EPA, 1993 et Randall et al. , 1992)

Parmi les composés inorganiques inhibiteurs on note le cyanure (CN^-), le ferricyanure ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$), le thiocyanate (SCN^-), l'arsenic (As^{3+}), le chrome (Cr^{6+}), le fluor (F^-), l'argent (Ag^+), le zinc (Zn^{2+}), le cuivre (Cu^+), le nickel (Ni^+), le mercure (Hg^+) et le soufre (S^{2-}). De nombreux composés inorganiques tels que le cyanure (CN^-) et l'arsenic (As^{3+}) agissent comme des chélateurs de métaux et inhibent alors les enzymes qui ont besoin de ces derniers pour être actives. D'après la littérature (U.S. EPA, 1993), les bactéries nitrifiantes peuvent s'adapter à des concentrations de métaux lourds de 10 à 20 mg/l. Selon d'autres auteurs, une inhibition totale est observée avec une concentration de 3,0 mg/l de zinc et de nickel et de 0,1 mg/l de cuivre (Randall et al., 1993). L'effet de quelques métaux sur la nitrification est présenté dans le tableau 1.3.

Il faut noter que *Nitrobacter* et *Nitrosomonas* sont inhibées par de fortes concentrations de leurs substrats, notamment dans les eaux résiduaires industrielles ou agricoles. De plus, ces substrats sont plus toxiques quand ils sont non dissociés ou libres (NH_3 et HNO_2) que sous forme ionique. L'ammonium libre inhibe la croissance de *Nitrosomonas* à partir d'une concentration de 10-150 mg/l et *Nitrobacter* à partir de 0,1-1,0 mg/l (U.S. EPA, 1993). L'acide nitreux libre inhibe la croissance de *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* à 0,22-2,8 mg/l. La concentration des espèces libres est liée directement avec le pH, la température, les concentrations en azote ammoniacal et en HNO_2 .

Diverses études ont montré que *Nitrosomonas* est sensible à plus de composés que *Nitrobacter*. *Nitrosomonas* est donc le maillon faible de la chaîne de réactions, tant par sa sensibilité aux composés toxiques que par sa vitesse de croissance plus faible que *Nitrobacter*. Les inhibiteurs font baisser le taux maximal de croissance en agissant sur les réactions enzymatiques et donc font baisser le taux maximal de nitrification qu'il est possible d'atteindre mais ils n'inhibent jamais complètement le processus. Il est possible de compenser cette baisse du taux maximal en augmentant l'âge des boues (Lykiardopol et al., 1999). Selon le même auteur, quand plusieurs substances inhibitrices se trouvent présentes en même temps, leur effet est plus marqué (principe de synergie). De plus, quand d'autres conditions sont défavorables, l'effet d'inhibition est d'autant plus intense. On peut tenir compte de l'effet des inhibiteurs sur la vitesse de dénitrification en la multipliant par un facteur qui peut avoir la forme suivante (dérivée d'une étude sur l'effet du sodium) (Lykiardopol et al., 1999) :

$$f(I) = \frac{K_{inhib}}{[I] + K_{inhib}} \quad (7)$$

où: [I] est la concentration de la substance inhibitrice [mg/l] et K_{inhib} la constante de demi-saturation pour I.

Métaux	Concentration (mg/l)	Effet
Cu	150	75% d'inhibition sur le système à boues activés
Ni	> 0,25	Croissance de <i>Nitrosomonas</i> inhibée (culture pure)
Cr III	118	75% d'inhibition sur le système à boues activés
Zn	0,08 - 0,5	Croissance de <i>Nitrosomonas</i> inhibée (culture pure)
Co	0,08 - 0,5	Croissance de <i>Nitrosomonas</i> inhibée (culture pure)

Tableau 1.3 : Inhibition de la nitrification par certains métaux (remarque : le niveau de sensibilité va fluctuer en fonction du niveau de chélation du milieu utilisé)
(d'après Henze et al., 1997)

1.3 Polluants secondaires en STEP

Dans les STEP, il y a deux types de pollution, la pollution primaire (telles que les pollutions carbonée, azotée et phosphorée) et la pollution secondaire. Selon la définition que nous utilisons, elle consiste en différents composés présents en concentrations relativement faibles, soit organiques (comme des perturbateurs endocriniens), soit inorganiques (comme les métaux lourds).

1.3.1 Composés organiques

Les perturbateurs endocriniens (« endocrine disrupting substances ») forment un groupe important de polluants secondaires organiques. Beaucoup de substances perturbant le fonctionnement hormonal ont été précédemment classées en tant que micropolluants organiques. C'est le cas des alkylphénols (APs), des polyéthoxylates d'alkylphénol (APEOs), des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), des polychloro-biphényles (PCBs), du bisphénol-A (BPA), des dioxines et des pesticides (Birkett et al., 2003). Ces substances perturbent le fonctionnement hormonal aussi bien chez l'homme que chez les animaux. Non seulement elles provoquent des dommages importants au niveau des organes reproducteurs mais elles peuvent également causer des troubles du comportement.

On peut également classer les COV (composés organiques volatils) tels que le chloroforme, le trichloroéthane, le tétrachlorure de carbone, le benzène et le naphthalène, comme des polluants secondaires. Ils sont souvent utilisés comme solvants dans les peintures, les vernis, les produits de nettoyage, etc. Le tableau 1.4 présente des informations issues de différents travaux concernant les composés organiques dans les STEP.

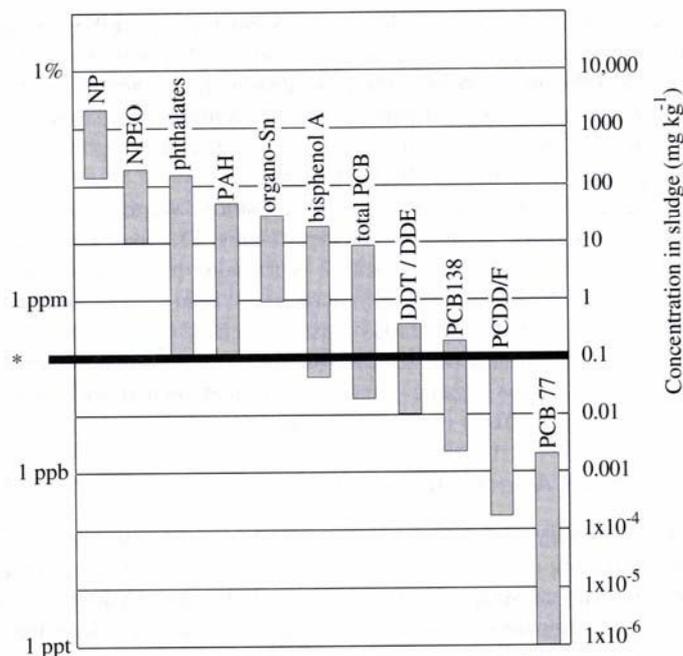
En étudiant ce tableau, on peut observer que la concentration de ces composés dans les boues des STEP est plus grande que dans les effluents. Cela provient de la biodégradabilité de ces composés et des capacités d'adsorption des boues primaires et secondaires. La figure 1.14 représente la concentration de quelques composés organiques qui ont été trouvés dans les boues activées des STEP (Birkett et al., 2003).

Composé	Usage	Lieu de prélèvement	Concentration	Unité	Référence
<i>Bisphénol A (BPA)</i>	Utilisé dans la production de certains plastiques de haute qualité (biberons par exemple) et dans la résine conçue pour foncer la plupart des boîtes de conserve ; retardateur de flamme pour plastiques	Effluent de STEP	0,018 - 0,702	µg/l	Fromme et al. (2002)
		Boue de STEP	0,004 - 1,363	mg/kg	
<i>Phtalates</i>	Ajoutés aux plastiques en PVC pour les rendre plus souples et flexibles ; entrant aussi dans la composition de toute une série de cosmétiques	Effluent de STEP	1,78 - 182	µg/l	Fromme et al. (2002)
		Boue de STEP	27,9 - 154	mg/kg	
<i>Nonylphénols (NP)</i>	Utilisés comme détergent, émulsifiant, agent de maquillage et agent dispersant	Effluent de STEP	<0,02 - 330	µg/l	Birkett et al. (2003)
		Eau usée	14	µg/l	
		Boue de digesteur aérobie	467	µg/l	
		Boue activée	128	mg/kg	
<i>Nonylphénols mono-éthoxylés (NP1EO)</i>	Comme NP	Effluent de STEP	49	µg/l	Birkett et al. (2003)
		Eau usée	18	µg/l	
		Boue de digesteur aérobie	53	µg/l	
		Boue activée	76	mg/kg	
<i>Nonylphénols di-éthoxylés (NP2EO)</i>	Comme NP	Effluent de STEP	44	µg/l	Birkett et al. (2003)
		Eau usée	18	µg/l	
		Boue de digesteur aérobie	61	µg/l	
		Boue activée de STEP	6	mg/kg	
<i>Polybromodiphényléthers (PBDE)</i>	Une famille spécifique de retardateurs de flamme bromés qui sont utilisés dans beaucoup d'industries (plastique, textile, électrique, etc.)	Boue activée	450	µg/kg	Öberg et al. (2002)
<i>Tétrabromobisphénol A (TBBPA)</i>	Comme BPA, retardateur de flamme	Boue activée	220	µg/kg	Öberg et al. (2002)
<i>2-Methoxybutane</i>	Dégraissage, nettoyage et application d'enduit	Effluent des trois principales STEP en Suède	0,5-7	µg/l	Paxéus (1995)

Tableau 1.4 : Exemples de composés organiques détectés dans les STEP

Composé	Usage	Lieu de prélèvement	Concentration	Unité	Référence
<i>1,2-Benzènedicarboxylique acide, monoéthyle ester</i>	Plastifiant et retardateur de flamme	Effluent des trois principales STEP en Suède	0,5-11	µg/l	Paxéus (1995)
<i>Pyrène</i>	Pour la fabrication de teintures, dans la synthèse de substances utilisées en optique pour leur brillance, semiconducteur organique	Effluent des trois principales STEP en Suède	<0,5-3,0	µg/l	Paxéus (1995)
<i>Cholestanol</i>	Utilisé dans les parfums et les odorants	Effluent des trois principales STEP en Suède	0,5-4,0	µg/l	Paxéus (1995)
<i>Tétrachloroéthylène</i>	Utilisé comme solvant et comme nettoyant à sec dans la fabrication et dans la finition des textiles, pour le nettoyage et le dégraissage des métaux	STEP en Grèce	7,50	µg/l	Nikolaou et al. (2002)
<i>Chloroforme</i>	Le chloroforme a été jadis utilisé comme anesthésique dans les blocs opératoires	STEP en Grèce	458,50	µg/l	Nikolaou et al. (2002)
<i>Tétrachlorure de carbone</i>	Utilisé comme solvant et comme nettoyant à sec et fumigène	STEP en Grèce	7,50	µg/l	Nikolaou et al. (2002)
<i>Benzène</i>	Un solvant inflammable	STEP en Grèce	5,90	µg/l	Nikolaou et al. (2002)
<i>Toluène</i>	Utilisé comme produit de départ industriel ou comme solvant	STEP en Grèce	13,70	µg/l	Nikolaou et al. (2002)

Tableau 1.4 : Exemples de composés organiques détectés dans les STEP (suit)



Abréviations :

NP = nonylphénol ; NPEO = nonylphénols-éthoxylés ; PAH = hydrocarbures aromatiques polycycliques ; PCB = polychlorobiphényles ; DDT = dichlorodiphényltrichloroéthane ; DDE = dichlorodiphényldichloroéthylène , PCDD = polychlorinated dibenzodioxine, * = 17β-Estradiol (hormone souvent utilisée comme référence)

Figure 1.14 : Représentation graphique de l'importance de quelques composés organiques dans les boues de STEP (Birkett et al., 2002)

1.3.2 Composés inorganiques

On peut détecter un grand nombre de composés inorganiques tels que des acides, des bases et des métaux dans les eaux usées. Parmi ceux-ci les métaux lourds (leur masse volumique est supérieure à 5000 kg/m³) ont des effets toxicologiques reconnus. Ils ne sont pas biodégradables. Le tableau 1.5 présente l'ordre de grandeur de concentrations des métaux dans les eaux usées (Henze et al., 2001).

Paramètre analysée	Concentration élevée (µg/l)	Concentration moyenne (µg/l)	Concentration faible (µg/l)
Aluminium	1000	650	400
Argent	10	7	4
Arsenic	5	3	2
Cadmium	4	2	2
Chrome	40	25	15
Cobalt	2	1	1
Cuivre	100	70	40
Fer	1500	1000	600
Plomb	80	65	30
Manganèse	150	100	60
Mercure	3	2	1
Nickel	40	25	15
Zinc	300	200	130

Tableau 1.5 : Concentration typique de métaux dans les eaux usées (Henze et al., 2001)

Quelques métaux lourds comme le *mercure* et le *platine* sont utilisés dans des produits pharmaceutiques. Ils entrent dans la composition de désinfectants (cas du *mercure*) ou d'*agents cytotatiques* (cas du *platine*). Certains, comme le *gadolinium*, sont aussi utilisés en Imagerie par Résonance Magnétique.

1.3.2.1 Mercure

Le mercure est un métal liquide. Utilisé depuis des siècles par l'homme, il représente un danger lorsqu'on l'absorbe. Le mercure aboutit très souvent dans les écosystèmes aquatiques où il s'accumule dans les organismes vivants ce qui entraîne des risques de consommation de certains poissons. Malgré la nature toxique du mercure, on l'utilise pour fabriquer différents produits, tels que des lampes fluorescentes et des amalgames dentaires. Par conséquent, la quantité de mercure qui est mobilisée et émise par les activités humaines a augmenté considérablement, ce qui a conduit à des concentrations élevées dans l'air, l'eau, le sol, les sédiments et les organismes vivants.

Selon le département de ressources naturelles du Wisconsin (WDNR, 2006), la moitié du mercure présent dans les STEP municipales aux Etats-unis provient des produits dentaires (comme l'amalgame), 30% provient des hôpitaux et des laboratoires et le reste (20%) provient de l'habitat résidentiel et de sources diverses. D'après Kümmerer et al. (1997) l'amalgame contribue en moyenne à 7,3% de la concentration en mercure dans les eaux municipales en Europe. Ce pourcentage va jusqu'à 15% aux Etats-Unis selon NACWA (2000). D'après Kümmerer (2001) des concentrations en mercure allant de 0,04 à 2,6 µg/l ont été trouvées dans les égouts d'hôpitaux européens. Presque 44% de l'émission du mercure dans le Rhin (approximativement 440 kg/an) provient des STEP municipales.

1.3.2.2 Famille du platine

Le platine est utilisé comme catalyseur chimique (dans les pots catalytiques des véhicules et dans différents procédés industriels) ainsi qu'en bijouterie, dans les contacts électriques, dans les creusets et dans les fours électriques à haute température. Le platine est également utilisé dans des composés pharmaceutiques comme des agents cytotatiques (tels que le cisplatine⁷, le carboplatine⁸ etc.). Les agents cytotatiques sont capables de bloquer la synthèse, le fonctionnement ou la multiplication cellulaire et sont utilisés pour le traitement de cancer.

La concentration maximale de platine (<10 à 1070 µg/kg) a été trouvée dans les boues de STEP municipale ayant reçu des effluents des industries de bijouteries (Lottermoser, 1994). Les concentrations de platine dans les échantillons des eaux usées ont été mesurées entre 20 et 3580 ng/l (Kümmerer, 2001). Lottermoser (1994) a recherché des platinoïdes dans les boues de STEP en Allemagne. Il a présenté les concentrations de certains éléments : le palladium de 38 à 4700 µg/kg, l'osmium de moins de 3 à 51 µg/kg, l'iridium de 0,6 à 26,5 µg/kg, le ruthénium de moins de 2 à 390 µg/kg et le rhodium de moins de 2 à 352 µg/kg. Il a précisé que les décharges industrielles contribuent en quantité significative à la présence de ces métaux dans les eaux usées et dans les boues de STEP.

⁷ Le cisplatine est utilisé, généralement en association avec d'autres anticancéreux, pour traiter des cancers des testicules, de l'ovaire, de l'œsophage, du col de l'utérus, de la vessie et les cancers épidermoïdes

⁸ Le carboplatine est un sel de platine beaucoup plus soluble que le cisplatine, et n'ayant pas de ce fait la même toxicité rénale. En outre, pour des raisons mal connues, il ne possède pas le même pouvoir émétogène et est de ce fait beaucoup mieux toléré par les malades.

1.3.2.3 Terres rares, métaux et métaux de transition

Certains métaux comme des éléments de terres rares sont utilisés en médecine. Par exemple le gadolinium et l'indium sont largement utilisés en Imagerie par Résonance Magnétique (IRM). Plusieurs travaux font état de concentrations en gadolinium dans les milieux aquatiques :

- effluents des hôpitaux : jusqu'à 100 µg/l (Kümmerer et Helmers, 2000),
- rivières : de 0,001 à 0,2 µg/l (Bau et Dulski, 1996),
- dans les boues de station de production d'eau potable : de 0,3 à 1,9 mg/kg (Kümmerer, 2001),
- dans des boues de STEP : de 0,6 à 2 mg/kg (Kümmerer, 2001).

1.3.3 Composés pharmaceutiques

A côté des principaux contaminants chimiques de l'environnement (HAP, PCB, pesticides, phtalates, métaux lourds, alkylphénols, dioxines...) on trouve des substances telles que des stéroïdes synthétiques (ex : estradiol, testostérone) utilisés dans de nombreux traitements hormonaux, divers médicaments de type anti-dépresseur (diazépam, amitriptyline), analgésique (ibuprofène, acétaminophène, acide acétyl-salicylique), antibiotique (néomycine, chloramphénicol, tétracyclines, etc), hypolipémiant (acide clorifibrique, gemfibrozil). Nous les développons dans ce sous-chapitre.

Les médicaments peuvent être classés selon leur catégorie thérapeutique : on distingue ainsi les analgésiques (agissant contre la douleur), les antibiotiques (antimicrobiens ayant une activité bactériostatique et/ou bactéricides), les antidépresseurs (qui traitent la dépression), les anti-inflammatoires (agissant contre l'inflammation) etc.

Cependant dans les articles concernant des méthodes analytiques pour détecter des composés pharmaceutiques dans l'environnement, on trouve d'autres systèmes de classification : produits acides (par exemple certains régulateurs de lipides), produits neutres (certains antiphlogistiques et agents antiépileptiques), antibiotiques (comme pénicilline) etc. (voir la partie 1.3.3.3).

Pour les tableaux présentés dans cette partie, les notations suivantes ont été retenues :

- les antihypertenseurs forment une classe de médicaments dans laquelle on trouve les diurétiques, les bêtabloquants, les inhibiteurs calciques et quelques autres groupes de médicaments ;
- les anticonvulsants, antiépileptiques ou anticomitiaux appartiennent à un groupe de médicaments utilisé dans la prévention ou le traitement de l'épilepsie ;
- les antinéoplasiques sont utilisés pour détruire les cellules cancéreuses ou empêcher leur prolifération (synonyme d'anticancéreux) ;
- les psycholeptiques ou psychodépresseurs sont des substances ayant la propriété de modérer ou de calmer les fonctions mentales (hypnotiques, neuroleptiques, tranquillisants).

1.3.3.1 Consommation des médicaments

Il y a environ 4000 médicaments disponibles actuellement. Ils font partie de la vie quotidienne, mais seule une partie d'entre eux est réellement métabolisée dans les organismes (êtres humains et animaux). Le reste, ainsi d'ailleurs que les métabolites, est finalement rejeté dans l'environnement par différentes voies (Ternes, 1998) :

- l'excrétion directe par l'homme et l'animal, via les eaux usées (plus ou moins traitées),
- les eaux de ruissellement des champs après épandage de fumier de bétail ou de boues urbaines plus ou moins stabilisées.
- les eaux usées industrielles,
- le transfert par infiltration à partir des eaux de surface fortement contaminées vers les eaux souterraines,
- les lixiviats de décharges municipales,
- la pisciculture.

Il n'est pas possible de trouver des données complètes et exactes sur la consommation des divers types de substances pharmaceutiques et sur leur présence dans les STEP, mais on peut cependant indiquer des tendances quant à la consommation et la présence de groupes médicaux et de leurs composés actifs dans certains pays.

Selon une enquête qui a été réalisée en France (Lecomte, 1994) quatre classes thérapeutiques constituent 50 % des prescriptions :

- les thérapeutiques cardio-vasculaires (20 %),
- les antalgiques et antirhumatismaux (13 %),
- les thérapeutiques de l'appareil respiratoire (9 %),
- les antibiotiques, anti-infectieux et antiparasitaires (8 %).

Les résultats obtenus par cette recherche sont présentés dans la figure 1.15.

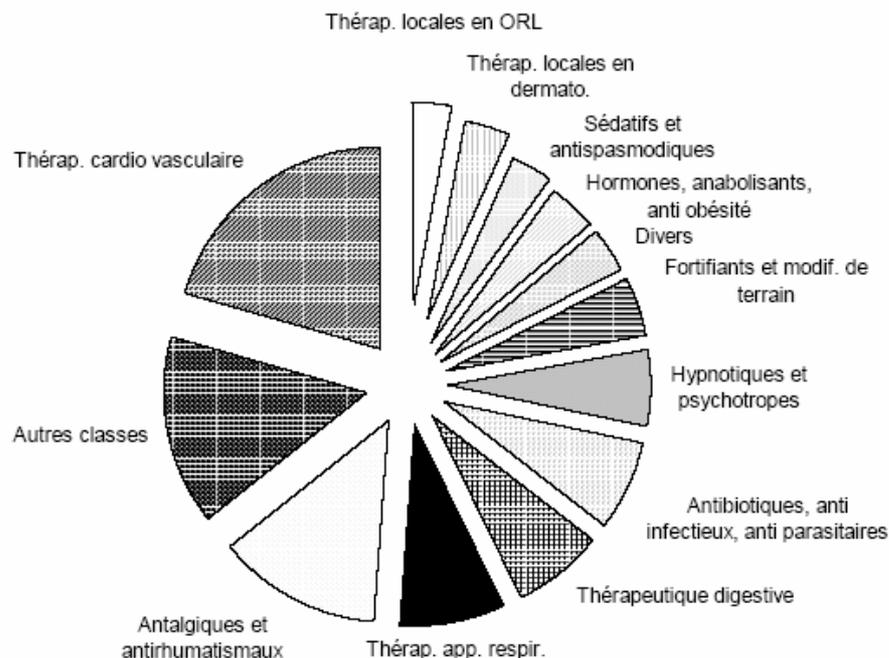


Figure 1.15 : Ventilation de la consommation pharmaceutique selon les classes thérapeutiques en France (Lecomte, 1994)

L'observation de la consommation pharmaceutique sur une longue période (1970-1991) permet de dégager les principales caractéristiques de son évolution. La consommation pharmaceutique par personne a progressé, tous âges réunis, plus pour les femmes que pour les hommes. En nombre de conditionnements, la croissance de la consommation a été fortement marquée pour les personnes âgées de plus de 60 ans. Cet accroissement de la consommation est dû pour l'essentiel aux thérapeutiques cardio-vasculaires mais aussi aux antalgiques, aux antibiotiques, aux hypnotiques et psychotropes et aux hormones.

Zuccato et al. (2001) ont calculé les charges théoriques environnementales des 100 produits pharmaceutiques majeurs (humains et vétérinaires) en Italie. Le tableau 1.6 présente les 10 principales substances actives obtenues par cette étude. D'après ces travaux on voit que les antibiotiques comme l'amoxicilline (qui est plus puissante que les pénicillines simples et qui est utilisée pour traiter les infections bactériennes spécifiques) et les anti-inflammatoires comme la ranitidine (qui est utilisée pour traiter les ulcères de l'estomac et du duodénum et les inflammations de l'œsophage dues au reflux gastro-œsophagien) sont les plus présents dans l'environnement. Ces auteurs également confirment que, dans la catégorie vétérinaire, les antibiotiques ont le premier rôle.

Au Danemark Stuer-Lauridsen et al. (2000) ont fait une estimation concernant la consommation des composés pharmaceutiques. Pour obtenir la consommation annuelle, ils ont multiplié le dosage quotidien par un facteur de conversion. Le tableau 1.7 montre les 10 substances actives les plus consommées d'après les résultats de cette étude. Selon ces auteurs, la consommation annuelle des antibiotiques, qui ne sont pas présentés dans le tableau, est approximativement de 34 tonnes par an. Cette valeur les place comme un des groupes thérapeutiques les plus consommés au Danemark.

Substance active	Propriété pharmacologique	Vente annuelle (tonnes)	Excrétion du composé de base (%)	Quantité rejetée l'environnement (tonnes/an)
<i>Amoxicilline</i>	Antibiotique	99,40	Dans l'urine : 60% (évaluation globale 60%)	59,64
<i>Ceftriaxone</i>	Antibiotique	16,31	Dans l'urine : 40-65%, une partie dans les matières fécales (évaluation globale 70%)	11,42
<i>Ranitidine</i>	Antiulcéreux, antihistaminique H2	26,14	évaluation globale 40%	10,46
<i>Sobrerol</i>	Agent mucolytique	55,23	évaluation globale 15%	8,28
<i>Aténolol</i>	Antihypertenseur, Bêtabloquant	8,38	Dans l'urine : 90% (évaluation globale 90%)	7,54
<i>Ceftazidime</i>	Antibiotique	7,90	Dans l'urine : 80-90% (évaluation globale 85%)	6,71
<i>Lincomycine</i>	Antibiotique	10,21	Dans l'urine : 50% (évaluation globale 50%)	5,11
<i>Furosémide</i>	Diurétique	3,88	Presque entièrement dans l'urine (90%)	3,49
<i>Captopril</i>	Antihypertenseur	6,74	Dans l'urine : 40-50% (évaluation globale 45%)	3,03
<i>Hydrochlorothiazide</i>	Diurétique	1,52	Presque entièrement dans l'urine (90%)	1,37

Tableau 1.6 : Quantités rejetées dans l'environnement de quelques médicaments en Italie en 1997 (d'après Zuccato et al., 2001)

Plusieurs recherches ont été réalisées en Allemagne pour trouver les concentrations des composés pharmaceutiques dans le milieu aquatique. Cependant il n'y a pas de chiffres exacts sur la consommation de ces composés. Le tableau 1.8 montre les résultats de l'estimation de la consommation de quelques produits pharmaceutiques dans ce pays. En étudiant ce tableau, on observe que les anti-inflammatoires, les hypolipidémiant et les bêtabloquants y sont les plus utilisés.

Hirsch et al., 1999 confirment que les antibiotiques sont produits en de très larges quantités (1831 tonnes/an) en Allemagne. Un tiers correspond à la classe pénicilline. Selon ses estimations la pénicilline V (140 tonnes/an), l'amoxicilline (25,5-127,5 tonnes/an), la sulfaméthoxazole (16,6-76 tonnes/an), l'érythromycine (3,9-19,8 tonnes/an) et la doxycycline (8-16 tonnes/an) sont les antibiotiques les plus consommés.

Aux États-Unis, Schwab et al., (2005) ont recherché le risque pour la santé humaine pour 26 produits pharmaceutiques. Le tableau 1.9 montre les 10 premiers composés pharmaceutiques les plus consommés aux États-Unis. D'après cette étude, on observe que les médicaments de groupes analgésique, anti-inflammatoire et antibiotique sont les plus consommés.

Substance active	Propriété pharmacologique	Consommation (tonnes/an)
<i>Acide acétylsalicylique</i>	Analgésique, Anti-inflammatoire	21,279
<i>Paracétamol</i>	Analgésique	28,425
<i>Ibuprofène</i>	Anti-inflammatoire, Analgésique	33,792
<i>Furosémide</i>	Diurétique	3,744
<i>Terbutaline</i>	Sympathomimétique	0,475
<i>Enalapril</i>	Inhibiteur de l'enzyme de conversion, Antihypertenseur	0,416
<i>Citalopram</i>	Antidépresseur	0,368
<i>Diazépan</i>	Psycholeptique, Anticonvulsivant	0,207
<i>Salbutamol</i>	Sympathomimétique	0,170
<i>Bendrofluméthiazide</i>	Diurétique	0,167

Tableau 1.7 : Composés pharmaceutiques les plus utilisés au Danemark (d'après Stuer-Lauridsen et al., 2000)

Substance active	Propriété pharmacologique	Consommation annuelle en 1993 (tonnes/an) (Zwiener et Frimmel, 2002)	Consommation annuelle estimée en 1995 (tonnes/an) (Ternes, 1998)
<i>Acide acétylsalicylique</i>	Analgésique, Anti-inflammatoire	23-116	
<i>Ibuprofène</i>	Anti-inflammatoire, Analgésique	48-96	105
<i>Diclofénac</i>	Anti-inflammatoire	48-72	75
<i>Bézafigrate</i>	Hypolipidémiant	38-57	30
<i>Acide Clofibrique</i>	Hypolipidémiant, hypocholestérolémiant	15-21	16
<i>Acide fénofibrique</i>	Hypolipidémiant	11-15	15
<i>Gemfibrozil</i>	Hypolipidémiant		6
<i>Indométacine</i>	Anti-inflammatoire, analgésique		6
<i>Métoprolol</i>	Antihypertenseur, Bêtabloquant		50
<i>Propranolol</i>	Antihypertenseur, Bêtabloquant		3
<i>Carbamazépine</i>	Anticonvulsivant		80

Tableau 1.8 : Estimation de consommation annuelle de quelques produits pharmaceutiques en Allemagne

Substance active	Propriété pharmacologique	Consommation annuelle aux Etats-Unis (2000) (tonnes/ans)
<i>Paracétamol</i>	Analgésique	8100
<i>Ibuprofène</i>	Anti-inflammatoire, Analgésique	2300
<i>Metformine</i>	Hypoglycémiant	1700
<i>Sulfaméthoxazole</i>	Antibiotique	309,1
<i>Gemfibrozil</i>	Hypolipidémiant	289,8
<i>Ranitidine</i>	Antiulcéreux, antihistaminique H2	284,6
<i>Diltiazem</i>	Inhibiteur calcique, Antihypertenseur	213,7
<i>Cimétidine</i>	Antiulcéreux, antihistaminique H2	160,3
<i>Erythromycine</i>	Antibiotique	126,1
<i>Tétracycline</i>	Antibiotique	112,8

Tableau 1.9 : Dix composés pharmaceutiques les plus consommés aux Etats-Unis (d'après Schwab et al., 2005)

Aux Pays-Bas, une recherche a été menée pour détecter les médicaments dans les rivières. Les principaux composés pharmaceutiques rencontrés sont : les analgésiques spécifiques, les anti-épileptiques, les bêtabloquants et les agents hypolipidémiants (Schrapp et al., 2004).

1.3.3.2 Toxicologie et risque

La toxicologie concerne de nombreux domaines. Les problèmes rencontrés sont différents pour chacun d'eux et appellent des réponses spécifiques.

On peut considérer les principaux risques liés à la pollution des milieux aquatiques suivant deux aspects (Viala, 2005) :

- risque pour les peuplements naturels. Ce type de risque concerne les effets des toxiques sur les écosystèmes. Quelques polluants comme le mercure entrent dans les chaînes alimentaires. Les perturbateurs endocriniens (comme le 17β – estradiol) peuvent avoir un impact sur l'équilibre hormonal d'une espèce vivante,
- risque pour la santé humaine liée à la présence de nombreuses substances chimiques et notamment pharmaceutiques.

Du fait des risques toxicologiques des composés pharmaceutiques, on doit porter une attention particulière aux (Kümmerer, 2001) :

- agents cytostatiques (quelques antibiotiques) et médicaments immunosuppresseurs ; à cause de leurs propriétés embryo-toxiques, cancérigènes et mutagènes ;
- antibiotiques et désinfectants ; parce que ces groupes sont très toxiques pour les bactéries et les autres micro-organismes de l'environnement, mais aussi parce qu'ils peuvent contribuer, dans l'environnement, à l'augmentation du potentiel de résistance des bactéries pathogènes mutantes ;
- hormones ; elles peuvent avoir un grand impact sur les hommes et les animaux en perturbant leurs fonctions hormonales, même en faible concentration ;
- chlorophénols et réactifs libérateurs de chlore, comme l'hypochlorite de sodium et les composés organiques halogénés adsorbables (AOX) ; ces groupes ont été beaucoup utilisés dans la fabrication de désinfectants, de certains solvants et de produits radio-contrastants de rayons X dans les hôpitaux. Très souvent ils ne sont pas biodégradables et ils diffusent largement dans l'environnement aquatique. Ils entrent ainsi dans le cycle d'alimentation en eau potable ;
- métaux lourds : ils ne sont pas dégradables et sont souvent fortement toxiques.

Selon certains travaux traitant d'écotoxicologie (Schrapp et al., 2004), les antidépresseurs et les antinéoplasiques (médicaments altérant l'ADN utilisés dans le traitement des cancers) ont les effets les plus dangereux dans l'environnement. Il faut ajouter que les antinéoplasiques sont

employés généralement dans les hôpitaux. Selon d'autres articles (Webb, 2001a), les classes pharmaceutiques les plus écotoxiques sont les antidépresseurs, les antibactériens et les antipsychotiques⁹.

Au Royaume-Uni, Webb (2001a) a estimé la toxicologie théorique de plus de 60 produits pharmaceutiques en utilisant la proportion PEC/PNEC¹⁰. La méthodologie utilisée pour estimer les PNEC et PEC est celle décrite dans les documents guides européens (Webb, 2001b et Stuer-Lauridsen, 2000). Le calcul du PEC des produits pharmaceutiques dans les rivières a été proposé comme suit pour les effluents de STEP :

$$PEC = \frac{\text{Conc. de la substance dans l'effluent} \times \text{débit de l'effluent}}{\text{débit du cours d'eau}} = \frac{A.(100 - R)}{365.P.V.D.100}$$

avec :

A = consommation annuelle du composé pharmaceutique, R = taux d'élimination dans les STEP, P = nombre d'habitants, V = valeur de la consommation en eau par habitant (en Union Européenne : 150-300 l/h par jour), D = facteur de la dilution (débit du cours d'eau / débit de l'effluent). Dans l'Union Européenne on considère, en général, que D = 10.

La détermination du PNEC a été proposée comme suit :

$$PNEC = \frac{\min[CE_{50}; CL_{50}; CSEO]}{1000}$$

avec :

CE₅₀ = valeur représentant la concentration d'une substance entraînant un effet néfaste chez 50% de la population étudiée pour un temps et une espèce donnés,

CL₅₀ = concentration létale 50% ; la concentration d'un polluant toxique provoquant 50 % de mortalité dans une population étudiée,

CSEO (ou NOEC) = concentration sans effet observé (résultats des essais de toxicité chronique) ; correspond à la plus forte concentration testée n'entraînant pas d'effet statistiquement différent de ceux observés sur une population témoin.

D'après Webb (2001a) la proportion PEC/PNEC de 60 produits pharmaceutiques dans les rivières au Royaume-Uni est inférieure à 1, à l'exception du paracétamol, de l'acide acétylsalicylique, du dextropropoxyphène, de la fluoxétine, de l'oxytétracycline, du propranolol, de l'amitriptyline et de la thioridazine. Il faut noter que ce calcul est fait en ne tenant pas compte de l'élimination possible des composés en station d'épuration. Ainsi, si on tient compte du pourcentage d'élimination dans les STEP et du facteur de dilution, ces huit composés ont aussi un PEC/PNEC < 1. Le tableau 1.10 présente les 20 composés pharmaceutiques les plus consommés au Royaume-Uni avec leurs rapports PEC et PNEC. Selon d'autres recherches menées en Angleterre, le rapport de PEC/PNEC excède 1 pour le paracétamol, l'amoxicilline, l'oxytétracycline et l'acide méfénamique (Jones et al., 2002).

⁹ Le terme « antipsychotique » tend à remplacer le terme « neuroleptique » pour désigner les médicaments de type chlorpromazine.

¹⁰ PEC = concentration de la substance dans l'environnement ; PNEC = concentration prédite sans effet

Substance active	Propriété pharmacologique	Consommation aux Royaume-Uni (tonnes/an)	PEC (µg/l)	PNEC (µg/l)	PEC/PNEC
<i>Paracétamol</i>	Analgésique	~ 2000	367,3	9,2	39,92
<i>Acide acétylsalicylique</i>	Anti-inflammatoire, Analgésique	770	141,4	141	1,00
<i>Metformine</i>	Hypoglycémiant	106,1	19,49	101	0,19
<i>Cimétidine</i>	Antiulcéreux, antihistaminique H2	72,0	13,22	740	0,02
<i>Ranitidine</i>	Antiulcéreux, antihistaminique H2	69,0	12,67	582 ^a	0,02
<i>Erythromycine</i>	Antibiotique	67,7	12,43	>74	<0,17
<i>Naproxène</i>	Anti-inflammatoire	60,6	11,13	128 ^a	0,09
<i>Dextropropoxyphène</i>	Morphinique, Analgésique	42,5	7,81	3,79 ^a	2,06
<i>Oxytétracycline</i>	Antibiotique	33,7	6,19	0,23	26,8
<i>Quinine</i>	Antiarythmique, Antifibrillante	29,7	5,45	10,1 ^a	0,54
<i>Théophylline</i>	Spasmodique	21	3,86	155	0,02
<i>Sels du Lithium (comme Gluconate de Lithium)</i>	Normothymique	20,5	0,35 (Li)	4,18 (Li)	0,08
<i>Métronidazole</i>	Antibactérien	15,5	2,85	12,5	0,23
<i>Iopromide</i>	Produit de contraste	11,9	2,19	>92	<0,01
<i>Propranolol</i>	Antihypertenseur, Bêtabloquant	11,8	2,17	1,87	1,16
<i>Vérapamil</i>	Inhibiteur Calcique	9,9	1,82	5,78 ^a	0,31
<i>Amitriptyline</i>	Psychoanaleptique, Antidépresseur	5,5	1,01	0,78	1,29
<i>Tétracycline</i>	Antibiotique	4,7	0,86	16,0	0,05
<i>Oméprazole</i>	Antiulcéreux	3,9	0,72	88	<0,01
<i>Thioridazine</i>	Psycholeptique, Neuroleptique	3,8	0,70	0,27 ^a	2,59

a. pour l'équivalent molaire de molécule « parente »

Tableau 1.10 : Présentation des 20 premiers composés pharmaceutiques les plus consommés aux Royaume-Uni avec leurs rapports PEC et PNEC (d'après Webb, 2001a)

Stuer-Lauridsen et al. (2000) ont cherché les valeurs de PEC et PNEC pour les 20 premiers médicaments les plus utilisés au Danemark. Cependant ils n'ont pas trouvé de données pour plus de la moitié des composés. En même temps, ils ont considéré deux PEC : la PEC proposée par l'Union Européenne et l'autre, mesurée dans les milieux aquatiques (MEC¹¹) au Danemark. Le tableau 1.11 montre quelques résultats de ces travaux. On peut y voir que le rapport PEC/PNEC des médicaments analgésiques et anti-inflammatoires peut dépasser 1. Mais il faut insister sur le fait qu'il n'y a pas assez d'informations pour la majorité des médicaments.

Schwab et al., (2005) ont indiqué que les rapports de MEC/PNEC aux Etats-Unis sont en général plus bas que le rapport PEC/PNEC. Selon eux, pour chacun des 26 composés étudiés dans l'eau potable et les eaux de surface, ces rapports n'indiquent aucun risque appréciable pour la santé humaine (Schwab et al., 2005).

¹¹ MEC = Measured Environmental Concentration = Concentration Environnementale Mesurée

Substance active	PEC (U.E) ($\mu\text{g/l}$)	MEC ($\mu\text{g/l}$)	PNEC ($\mu\text{g/l}$)	MEC/PNEC	PEC(UE)/PNEC
<i>Acide acétylsalicylique</i>	80,4	1,51	61	0,025	1,3
<i>Paracétamol</i>	65,4		136* 9,2 **		0,5 7,1
<i>Ibuprofène</i>	8,90	3,4	9,6	0,36	1,0
<i>Furosémide</i>	0,99				
<i>Terbutaline</i>	0,125	0,12			
<i>Enalapril</i>	0,110				
<i>Citalopram</i>	0,055	0,04	4,2	0,01	0,013
<i>Diazépam</i>	0,097				
<i>Salbutamol</i>	0,045	0,17			
<i>Bendrofluméthiazide</i>	0,44				

* non standards D. magna Test

** standards D. magna Test

Tableau 1.11 : MEC, PEC et PNEC pour quelques composés pharmaceutiques au Danemark (d'après Stuer-Lauridsen et al., 2000)

1.3.3.3 Méthodes analytiques

La grande difficulté pour rechercher les composés pharmaceutiques dans les eaux est liée :

- au nombre important de médicaments et composés actifs (de l'ordre de 50 000 et 900 en Allemagne, respectivement) (Kümmerer, 2001),
- à leurs faibles concentrations et à la complexité de la méthode de détection.

Dans les environnements aquatiques, les méthodes analytiques varient selon le produit pharmaceutique étudié. On peut détecter de nombreux composés pharmaceutiques dans différentes catégories, en combinant différentes techniques analytiques : la chromatographie en phase gazeuse (GC), la chromatographie en phase liquide (LC), la spectrométrie de masse (MS). On intercale en général un système par électro-spray (ES) entre l'HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance) et le spectromètre de masse. Quelquefois, il est nécessaire de procéder à l'extraction de la phase solide (SPE), avant d'utiliser les méthodes analytiques. Le tableau 1.12 présente les méthodes analytiques qui sont utilisées pour la détection des différents composés pharmaceutiques dans les milieux aquatiques (et spécialement dans l'eau usée).

Les méthodes d'analyses utilisées pour chaque groupe de médicaments sont mentionnées ci-dessous (Ternes, 2001 ; Kloepfer et al., 2003 ; Strenn et al., 2003) :

- les médicaments acides (par exemple certains antiphlogistiques, régulateurs de lipide) comme l'ibuprofène, le diclofénac et le naproxène : GC/MS ou GC/MS/MS,
- les bêtabloquants et β_2 -sympathomimétiques comme l'aténolol, la terbutaline, le timolol et le propranolol : LC/ES/MS/MS,
- les produits pharmaceutiques neutres (certains antiphlogistiques, régulateurs de lipide, agents antiépileptiques, médicaments psychiatriques et vasodilatateurs) comme le clorofibrate, l'ifosfamide et le diazépam : LC/MS/MS ou GC/MS,
- les antibiotiques comme la pénicilline, les tétracyclines, les sulfonamides, les macrolides tels que l'érythromycine : LC/ESI/MS/MS (HPLC combiné avec l'ionisation de type électro-spray et la spectrométrie de masse de type tandem),
- les radio-contrastants comme l'iopamidol, l'iopromide et le diatrizoate : LC-ES/MS/MS,

- les deux groupes d'oestrogènes, les oestrogènes naturels (par exemple le 17 β -estradiol ou l'estrone) et les contraceptifs synthétiques (par exemple le 17 α -éthinyloestradiol) : GC/MS/MS ou LC/MS/MS.

Composés détectés	Méthodes utilisés	référence
<i>Antibiotiques</i>	LC(ESI)/MS/MS	Alexy et al. (2004)
<i>Estrogènes</i>	GC/MS	Andersen et al. (2003)
<i>Estrogènes (naturel et synthétique)</i>	LC/MS/MS	Baronti et al. (2000)
<i>Estrogènes</i>	GC/MS/MS	Belfroid et al. (1999)
<i>Ibuprofène</i>	MS/MS	Buser et al. (1999)
<i>25 composés pharmaceutiques (tels que Amoxicilline, Aténolol, Ceftriaxone)</i>	LC/MS/MS	Castiglioni et al. (2004)
<i>Bézafibrate, Diclofénac, Ibuprofène, Tonalide</i>	GC/MS	Clara et al. (2003)
<i>Carbamazépine</i>	LC/MS/MS	
<i>Quelques composés anti-inflammatoires non stéroïdes comme kétoprofène, Naproxène et ibuprofène</i>	LC(ESI)/MS	Farré et al. (2001)
<i>Stéroïde : Estrogène</i>	LC/(ESI)MS/MS	Hansen et al. (2004)
<i>Médicament du Sulfonamide : sulfanilamide, Sulfathiazole</i>	LC/MS/MS	Hartig et al. (1999)
<i>Stéroïde</i>	GC/MS/MS	Heberer (2002)
<i>Antibiotiques</i>	LC/(ESI)MS/MS	Hirsch et al. (1999)
<i>Estrogènes</i>	GC/MS/MS	Jacobsen et al. (2003)
<i>Stéroïde estrogène</i>	LC/MS/MS	Johnson et al. (2000)
<i>Acide acétylsalicylique, Acide Clofibrique, Ibuprofène, Triclosan</i>	GC/MS	Kanda (2003)
<i>Cyclophosphamide, Fluvoxamine</i>	LC/MS	
<i>Antibiotiques, Analgésiques, anti-inflammatoire</i>	LC/MS	Kolpin et al. (2004)
<i>Estrogènes (différentes substances)</i>	LC/MS/MS	Komori et al. (2003)
<i>Estrogènes (couplée et free)</i>	GC/MS/MS	Krogh et al. (2004)
<i>Estrogène (endogène et exogène)</i>	GC/MS	Kuch & Ballschmiter (2000)
<i>Aténolol, Carbamazépine, Métoprolol, Triméthoprim</i>	LC/MS/MS	Paxéus (2003)
<i>Diclofénac, Gemfibrozil, Ibuprofène, Naproxène, Triclosan</i>	GC/MS	
<i>Bézafibrate, Diclofénac, Ibuprofène</i>	GC/MS	Strenn et al. (2003)
<i>Carbamazépine</i>	LC/MS/MS	
<i>Régulateurs de lipide, anti-inflammatoires</i>	GC/MS	Stumpf et al. (1999)
<i>Radio-contrastants</i>	LC/(ES)MS/MS	Ternes & Hirsch (2000)
<i>Bétabloquant</i>	GC/MS	Ternes (1998)
<i>Produits pharmaceutiques neutres</i>	GC/MS	
<i>Médicaments acides (e.g. Ibuprofène, Diclofénac et Naproxène)</i>	GC/MS/MS ou GC/MS	Ternes (2001)
<i>Estrogènes</i>	GC/MS/MS	Ternes et al. (1999)
<i>Acide Clofibrique, Diclofénac, Ibuprofène</i>	GC/MS	Zwiener & Frimmel (2000)

Tableau 1.12 : Méthodes analytiques utilisées pour la détection des produits pharmaceutiques dans les eaux usées

1.3.4 Présence et devenir des composés pharmaceutiques dans les STEP

Les rejets des STEP municipales sont la principale source de contamination des milieux récepteurs par les composés pharmaceutiques (Kümmerer, 2001). Dans la majorité des études sur la présence de résidus médicamenteux dans les eaux usées, un nombre restreint de composés a été pris en compte en comparaison avec le nombre très important de produits rejetés dans les eaux usées. En général le processus d'élimination des composés médicaux (adsorption, biodégradation ou évaporation) est peu abordé. Les données sont très diverses et il est difficile de trouver des relations entre elles. Pour cette raison, il a été décidé de les rassembler dans une base de données pour pouvoir les comparer en terme de : concentration dans les eaux résiduaires, concentration dans les rejets de STEP et rendement d'élimination. Ceci a été réalisé en classant les composés en quatre catégories : « hormones », « AOX et autres radio-contrastants », « antibiotiques », et « autres produits pharmaceutiques ». Il faut ajouter que dans tous les tableaux suivants, nous avons présenté le plus possible d'informations. Malgré cela, il en manque beaucoup surtout sur les caractéristiques des installations de traitement car la majorité des travaux n'insistent pas sur les procédés. De plus, les chiffres présentés dans les tableaux sont ceux indiqués par les auteurs. Dans certains cas le taux d'élimination ou bien la concentration dans l'effluent ne sont pas très cohérents avec la concentration dans les eaux usées. La justification suivante peut être avancée : dans plusieurs cas, ils n'ont pas étudié la concentration dans les eaux usées et dans l'effluent de la STEP en même temps.

1.3.4.1 Hormones

Les hormones sont classées en deux groupes : les hormones naturelles et les hormones synthétiques. Les hormones ont pour fonction la régulation de l'activité d'un ou plusieurs organes dont elles modifient le comportement. Certaines hormones exercent une influence sur la croissance cellulaire, d'où leur rôle en oncologie. Les hormones naturelles sont des substances biologiques hautement actives synthétisées par une glande endocrine ou un tissu endocrinien. Les hormones synthétiques sont fabriquées par l'industrie pharmaceutique.

Les hormones forment une partie importante des modulateurs du système endocrinien. Des effets notables sont observés dans l'environnement aquatique à cause de la présence et de l'augmentation de ces composés (féminisation des poissons mâles dans les rivières réceptrices d'eaux usées Ternes et al., 1999). Aujourd'hui on avance l'hypothèse que la prise d'oestrogènes cause l'augmentation des cas de cancer testiculaire et la diminution du nombre de spermatozoïdes. L'émergence d'autres désordres concernant l'infertilité masculine pourrait se faire par l'intermédiaire de la nourriture ou de l'eau potable (Ternes et al., 1999).

Les médicaments utilisés pour le contrôle des naissances sont un bon exemple de composés pharmaceutiques contenant des hormones. Il n'y a pas beaucoup d'information sur la présence et le devenir (biodégradabilité, assimilation dans les boues, etc.) de ces composés dans les STEP. Le tableau 1.13 montre quelques résultats tirés de la littérature correspondant aux hormones dans les eaux résiduaires ainsi que leur rendement d'élimination.

Substance	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Elimination (%) dans les STEP	Remarque	Référence
<i>Estrogène</i>	0,2 - 0,5 nmol/l			Eau usée brute	Halling-Sørensen et al. (1998)
			0,024 - 0,048	STEP en Israël	Belfroid et al. (1999)
<i>Ethinylestradiol</i>		0,0005 - 0,0003		Sortie du décanteur	Halling-Sørensen et al. (1998)
<i>Noréthistérone</i>		0,008 (<LD) - 0,020		Sortie du décanteur	Halling-Sørensen et al. (1998)
<i>Testostérone</i>	0,8 - 1,1 nmol/l			Eau usée brute	Halling-Sørensen et al. (1998)
<i>Estrone (E1)</i>	0,065	<0,001	>98 (~ 5% boue)	STEP à boues activées avec décanteur primaire +Nitrification+dénitrification+décanteur secondaire	Andersen et al., (2003)
	0,0005 - 0,140	0,0005 (<LD) - 0,054	74	5 STEP (à boues activées) en Italie et 3 en Allemagne	Johnson et al. (2000)
	0,040		83	STEP à boues activées au Brésil	Ternes el al. (1999)
		0,009		16 STEP en Allemagne	Ternes el al. (1999)
		0,027		STEP à boues activées en Allemagne	Ternes el al. (1999)
		0,001 - 0,007 (max)		38 STEP en Allemagne	Ternes (2001)
	0,0055	0,0025		STEP en Allemagne	Adler et al. (2001)
		0,0045		3 STEP à boues activées aux Pays-Bas	Belfroid et al. (1999)
		0,0004		3 STEP industrielles par boues activées aux Pays-Bas	Belfroid et al. (1999)
		0,032 - 0,048		Après le décanteur premier	Desbrow et al. (1998)
		0,0012 - 0,0051		Filtre percolateur + filtre à sable	Desbrow et al. (1998)
		0,0018 - 0,0036		STEP à boues activées + lagune pour le traitement tertiaire	Desbrow et al. (1998)
		0,002 - 0,013		STEP par boues activées	Desbrow et al. (1998)
		0,015 - 0,076		STEP par boues activées + décanteur secondaire	Desbrow et al. (1998)
		0,0061 - 0,012		Biofiltration + lagune	Desbrow et al. (1998)
	0,0014 - 0,0099		Aération prolongée	Desbrow et al. (1998)	
0,019	0,011		Une STEP au Danemark	Jacobsen et al. (2003)	
0,024	0,012	50	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)	
	0,052	61	6 STEP (à boues activées) à Rome	Baronti et al. (2000)	

Note : l'ensemble des chiffres de ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Abréviations :

LD = limite de détection ; PD = pas de détection ; MBR : bioréacteur à membrane

Tableau 1.13 : Présence des hormones dans les STEP

Substance	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Elimination (%) dans les STEP	Remarque	Référence
<i>17β-Estradiol (E2)</i>	0,002 - 0,044	0,0005 (<LD) - 0,012	88	5 STEP (à boues activées) en Italie et 3 en Allemagne	Johnson et al. (2000)
	0,020	0,020		STEP aux Etats-Unis	Kozak et al. (2001)
	0,038 - 0,089	0,021 - 0,130		STEP en Australie	Kozak et al. (2001)
	0,015		64	STEP à boues activées en Allemagne	Ternes et al (1999)
	0,021		99.9	STEP à boues activées au Brésil	Ternes et al (1999)
		0,001 (<LD) -0,003(max)		38 STEP en Allemagne	Ternes (2001)
	0,0015	0,0002		STEP en Allemagne	Adler et al. (2001)
		0,0009		3 STEP à boues activées aux Pays-Bas	Belfroid et al. (1999)
		0,0005 (<LD) -0,0024		2 STEP industrielles par boues activées aux Pays-Bas	Belfroid et al. (1999)
		0,021 (max)		STEP en Allemagne	Belfroid et al. (1999)
		0,029 - 0,048		Après le décanteur premier	Desbrow et al. (1998)
		0,0037 - 0,0044		filtre percolateur + filtre à sable	Desbrow et al. (1998)
		0,0027 - 0,0063		STEP à boues activées + lagune pour le traitement tertiaire	Desbrow et al. (1998)
		0,0043 - 0,012		STEP à boues activées	Desbrow et al. (1998)
		0,0065 - 0,010		STEP à boues activées + décanteur secondaire	Desbrow et al. (1998)
		0,004 - 0,0057		Biofiltration + lagune	Desbrow et al. (1998)
	0,0061 - 0,0074		Aération prolongée	Desbrow et al. (1998)	
0,015	<0,001	>98 (~ 5% boue)	STEP à boues activées avec décanteur primaire +Nitrification+dénitrification+décanteur secondaire	Andersen et al., (2003)	
0,0065	0,0045		Une STEP au Danemark	Jacobsen et al. (2003)	
0,0057	PD	99	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)	
0,012		85	16 STEP (à boues activées) à Rome	Baronti et al. (2000)	

Note : l'ensemble des chiffres de ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Abréviations :

LD = limite de détection ; PD = pas de détection ; MBR : bioréacteur à membrane

Tableau 1.13 : Présence des hormones dans les STEP (suite)

Substance	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Elimination (%) dans les STEP	Remarque	Référence
<i>17α-Ethinylestradiol (EE2)</i>	0,0002 (<) - 0,010	0,0002 (<LD) - 0,0045	77 - >98	5 STEP (à boues activées) en Italie et 3 en Allemagne	Johnson et al. (2000)
	0,500 - 2,250	0,0250 - 1,780		STEP des Etats-Unis	Kozak et al. (2001)
	0,004 - 0,013	0,022 - 0,014		STEP en Australie	Kozak et al. (2001)
			78	STEP à boues activées au Brésil	Ternes et al. (1999)
		0,0002 (<LD) - 0,0075		STEP des Pays-bas	Kozak et al. (2001)
	0,007			STEP en Allemagne	Adler et al. (2001)
		0,0003		16 STEP en Allemagne	Ternes et al. (1999)
	0,006			STEP au Canada	Ternes et al. (1999)
		0,001 (moyen<LD) 0,015 (max)		38 STEP en Allemagne	Ternes (2001)
		0,0003 (<LD) - 0,0018		3 STEP à boues activées aux Pays-Bas	Belfroid et al. (1999)
		0,0003 (<LD) - 0,0018		2 STEP industrielles à boues activées aux Pays-Bas	Belfroid et al. (1999)
		0,017 - 0,062 (max)		STEP en Allemagne	Belfroid et al. (1999)
		0,0003 - 0,0005		STEP en Allemagne	Belfroid et al. (1999)
		PD - 0,007		Après premier décanteur	Desbrow et al. (1998)
		PD		Filtre percolateur + filtre à sable	Desbrow et al. (1998)
		PD		STEP à boues activées + lagune pour le traitement tertiaire	Desbrow et al. (1998)
		PD		STEP par boues activées	Desbrow et al. (1998)
		0,0019 - 0,0043		STEP par boues activées + décanteur secondaire	Desbrow et al. (1998)
		0,0002 - 0,0008		Biofiltration + lagune	Desbrow et al. (1998)
	0,008	<0,001	>90 (~ 5% boue)	STEP à boues activées avec décanteur primaire +Nitrification+dénitrification+décanteur secondaire	Andersen et al., (2003)
	0,004 (max)		16 STEP en Allemagne	Ternes et al. (1999)	
		60-70	Pilote par deux systèmes : Boues Activées et MBR	Clara et al. (2003)	
0,0011	0,0052		Une STEP au Danemark	Jacobsen et al. (2003)	
PD	PD		20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)	
0,003		85	6 STEP (boues activées) à Rome	Baronti et al. (2000)	

Note : l'ensemble des chiffres de ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Abréviations :

LD = limite de détection ; PD = pas de détection ; MBR : bio- réacteur à membrane

Tableau 1.13 : Présence des hormones dans les STEP (suite)

Substance	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Élimination (%) dans les STEP	Remarque	Référence
<i>17α-Estriol (E3)</i>	0,002 - 0,120	0,0005 (<LD) - 0,028	77	5 STEP à boues activées en Italie	Johnson et al. (2000)
	0,080		95	6 STEP (boues activées) à Rome	Baronti et al. (2000)
		0,0001 (<LD) - 0,0012		3 STEP à boues activées aux Pays-Bas	Belfroid et al. (1999)
	0,110	0,0015	99	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)
		0,0003 (<LD) - 0,0018		STEP industrielles par boues activées aux Pays-Bas	Belfroid et al. (1999)
<i>16α-Hydroxyestron</i>		0,001 - 0,005 (max)		16 STEP en Allemagne	Ternes et al. (1999) Ternes (2001)
<i>Estrone-3-sulfate (E1-S)</i>	0,042	0,013	70	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)
<i>β-Estradiol 3-sulfate (E2-S)</i>	0,110	0,052	50	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)
<i>Estriol 3-sulfate (E3-S)</i>	0,022	0,069	0	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)
<i>Estrone β-D-glucuronide (E1-G)</i>	0,011	0,074	0	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)
<i>β-Estradiol 17-β-D-glucuronide (E2-G)</i>	0,018	0,091	0	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)
<i>Estriol 17-β-D-glucuronide (E3-G)</i>	0,022	0,072	0	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)
<i>β-Estradiol 3-sulfate 17-glucuronide (E2 S&G)</i>	0,0055	0,0089	0	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)
<i>Estradiol 3,17-disulfate (E2-diS)</i>	0,077	0,360	60	20 STEP au Japon	Komori et al. (2003)

Note : l'ensemble des chiffres de ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Abréviations :

LD = limite de détection ; PD = pas de détection ; MBR : bioréacteur à membrane

Tableau 1.13 : Présence des hormones dans les STEP (suite)

1.3.4.2 AOX et autres radio-contrastants

Un produit de contraste est une substance administrée afin de créer un contraste artificiel sur une structure anatomique ou pathologique naturellement peu ou pas contrastée pour une imagerie radiologique. Ces produits sont utilisés dans deux grandes classes d'imagerie : la radiographie et l'IRM. Pour faire une radiographie on utilise les produits de contraste iodés qui bloquent les rayons X grâce à l'iode qui possède un numéro atomique élevé ($z = 53$).

Les hôpitaux utilisent massivement des AOX. Ceux-ci sont ensuite rejetés dans l'environnement par le biais du réseau d'assainissement. 50% de ces AOX sont sous forme de composés organiques à base d'iode (AOI) (Kümmerer, 2001). Une autre étude montre la présence des AOI dans les effluents domestiques aux Etats-Unis (Drewes et al., 2001). La concentration de ces composés varie entre 6 et 22 $\mu\text{g/L}$ le week-end et entre 10 et 40 $\mu\text{g/L}$ pendant la semaine. Dans ces travaux, les AOI sont détectés dans les installations de traitement des eaux et dans les eaux souterraines. L'iopromide a été détecté dans la Seine dans une gamme allant de 6,8 à 10,6 ng/L (Bruchet et al., 2005). Les AOI ont également été détectés en faibles teneurs dans l'eau potable (Mons et al., 2004).

Il faut aussi signaler que tous les AOX ainsi que les radio-contrastants sur lesquels des recherches ont été faites ont une grande stabilité biochimique. Ils sont majoritairement non biodégradables et non métabolisables (Ternes et Hirsch, 2000). Les AOI sont éliminés au cours du traitement tertiaire dans le cas de l'utilisation de membranes d'osmose inverse (OI) (Drewes et al., 2001).

Le tableau 1.14 représente les concentrations des composés organiques radio-contrastants trouvés dans les STEP.

Substance	Concentration dans les eaux usées ($\mu\text{g/l}$)	Concentration dans l'effluent ($\mu\text{g/l}$)	Référence
<i>AOX</i>	130 – 940		Kümmerer (2001)
<i>AOI</i>	3 (~)		Hirsch et al. (2000)
		5,6 - 9,24 (STEP en Californie)	Drewes et al. (2001)
		PD - 24,4 (STEP en Arizona)	Drewes et al. (2001)
		PD - 39,52 (STEP au Texas)	Drewes et al. (2001)
<i>Diatrizoate</i>	$3,3 \pm 0,7$	$4,1 \pm 0,8$	Ternes et al. (2000)
		0,08 (moy) ; 8,7 (max)	Ternes (2001)
<i>Iopamidol</i>	$4,3 \pm 0,9$	$4,7 \pm 1,0$	Ternes et al. (2000)
		0,66 (moy) ; 15 (max)	Ternes (2001)
<i>Iotalamate</i>	$0,18 \pm 0,1$	$0,14 \pm 0,1$	Ternes et al. (2000)
<i>Ioxitalamate</i>	$0,17 \pm 0,1$	$0,16 \pm 0,1$	Ternes et al. (2000)
<i>Iomeprol</i>	$1,6 \pm 0,4$	$1,3 \pm 0,3$	Ternes et al. (2000)
		0,37 (moy) ; 3,8 (max)	Ternes (2001)
<i>Iopromide</i>	$7,5 \pm 1,5$	$8,1 \pm 1,6$	Ternes et al. (2000)
		0,75 (moy) ; 11 (max)	Ternes (2001)

PD : pas de détection

Tableau 1.14 : Concentrations des produits contrastants dans les STEP

1.3.4.3 Antibiotiques

Un des groupes de médicaments les plus importants est celui des antibiotiques. Ils ont une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les micro-organismes à dose thérapeutique. Ils sont sensés être de moindre toxicité pour les autres cellules. Les travaux qui concernent la détection des antibiotiques dans l'environnement sont de plus en plus nombreux (Hirsch et al., 1999 ; Löffler et Ternes, 2003) en raison de leur grande consommation et de leur éco et bio-toxicité (Halling-Sørensen et al. et, 1998, Webb, 2001).

La présence des antibiotiques dans l'environnement aquatique pose deux problèmes : I) la toxicité potentielle de ces composés par rapport aux organismes aquatiques et aux êtres humains via l'eau potable ; II) la possibilité d'apparition de résistance chez des bactéries pathogènes (Kümpel et al., 2001).

Quatre voies de résistance aux antibiotiques sont décrites : modification du site de fixation de l'antibiotique, synthèse d'une enzyme capable de dégrader l'antibiotique, réduction de la perméabilité de la membrane (par réduction du nombre de porines), efflux de l'antibiotique en dehors de la cellule. La résistance s'acquiert par sélection naturelle suite à une mutation génétique ou par transfert de gènes entre deux espèces.

Environ 30 à 90 % des doses administrées de tous les antibiotiques consommés par les êtres humains et les animaux sont rejetées sous forme de substances actives (Ternes, 2001). Certains antibiotiques comme la pénicilline sont très consommés, mais ils ne peuvent pas être détectés dans les environnements aquatiques, car ils sont très hydrolysables (Hirsch et al., 2000).

Dans les eaux de surface certains de ces antibiotiques sont détectés jusqu'à 1 µg/L. Ils proviennent principalement des STEP et présentent une dégradation faible voire nulle (Kümpel et al., 2001). Les concentrations maximales de sulfaméthoxazole et de roxithromycine dans la Seine sont de l'ordre de 202 ng/L et de 36 ng/L respectivement (Bruchet et al., 2005). Les antibiotiques sont également détectés dans les eaux souterraines en faible concentration. Les origines de ces antibiotiques sont les usages vétérinaires (Hirsch et al., 1999) ou les sites de stockage des déchets pharmaceutiques (Holm et al., 1995).

La charge en antibiotiques des eaux usées urbaines est en général faible. Cependant elle est forte dans les effluents des hôpitaux (Witters et al., 2004) et parfois une concentration élevée a été détectée dans certaines eaux usées urbaines (Hirsch et al., 1999). Les résultats des travaux récents concernant la présence des antibiotiques et antibactériens dans les STEP sont présentés dans le tableau 1.15.

Substance	Classe d'antibiotique	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Elimination dans la STEP ou devenir	Remarque	Référence
<i>Clarithromycine</i>	Macrolide		0,24 (max)	65 - 96%		Hirsch et al. (1999)
				0 %	Traitement classique à boues activées + filtration + biofiltre	Göbel et al. (2004)
			0,14 - 0,26 (max)		8 STEP urbaines en Allemagne	Ternes (2001)
<i>Chloramphénicol</i>	Phénicolés (classe chimique : propanediol)		0,56 (max)	65 - 95%		Hirsch et al. (1999)
			0,02 (moy <LD) - 0,56 (max)		10 STEP urbaines en Allemagne	Ternes (2001)
<i>Ciprofloxacine</i> (Médecine humaine & vétérinaire)	Quinolone	0,249 - 0,405	0,2	65% (75% boue)		Hirsch et al. (1999)
			0,045 - 0,108	70-80%	4 STEP en Suisse	Golet et al. (2001)
<i>Erythromycine</i> (Dehydroto-)	Macrolide		6,00	65-75% (hydrolysée facilement)		Hirsch et al. (1999), Kümmerer (2001)
			2,5 - 6,00 (max)		10 STEP urbaines en Allemagne	Ternes (2001)
<i>Norfloxacine</i> (Médecine humaine & vétérinaire)	Quinolone	0,270 - 0,346	0,048 - 0,120	70-80%	4 STEP au Suisse	Golet et al. (2001)
<i>Sulfadiazine</i> (Médecine humaine & vétérinaire)	Sulfonamide		0,05		Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
			0,081 ± 0,048 (pri.)		STEP à Berlin	Hartig et al. (1999)
			0,100 ± 0,085 (sec.)			Hirsch et al. (1999)
			0,40		Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
			< 0,01		10 STEP urbaines en Allemagne	Ternes (2001)
		0,40 - 2,0 (max)			Hirsch et al. (1999)	

Abréviations : LD = limite de détection ; pri = traitement primaire ; sec = traitement secondaire

Note : Ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Tableau 1.15 : Présence et devenir de certains antibiotiques et antibactériens dans les STEP

Substance	Classe d'antibiotique	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Élimination dans la STEP ou devenir	Remarque	Référence
<i>Sulfaméthoxazole</i> (Médecine humaine & vétérinaire)	Sulfonamide		0,90			Heberer (2002 b)
			2,460 ± 0,500 (pri.)			Hartig et al. (1999)
			1,500 ± 0,320 (sec.)			
<i>Tétracycline</i>	Tétracycline	(>) 4,5	0,90			Heberer (2002 b)
<i>Triméthoprime</i>	Sulfonamide		2,460 ± 0,500 (pri.)			Hartig et al. (1999)
			1,500 ± 0,320 (sec.)			
<i>Ampicilline</i>	Pénicilline			Non biodégradable		Halling-Sørensen et al. (1998)
<i>Pénicilline</i>	Pénicilline			Hydrolysée facilement		Hirsch et al. (1999)
<i>Pénicilline G</i>	Pénicilline			27% biodégradable		Al-Ahmad et al. (1999)
<i>Céfotiam</i>	Bêta-lactamine			un peu biodégradable		Al-Ahmad et al. (1999)
<i>Méropénem</i>	Bêta-lactamine			Peu biodégradable		Al-Ahmad et al. (1999)
<i>Quinolone</i>	Classes des quinolones			Peu biodégradable		Kümmerer (2001)
<i>Nitromidazole</i>	Antibactérien			Peu biodégradable		Kümmerer (2001)
<i>Métronidazole</i>	Antibactérien (classe chimique : éthanol)			Non biodégradable		Halling-Sørensen et al. (1998)
<i>β-lactamine</i>	Classe contenant la céphalosporine et la pénicilline			Hydrolysé avant arrivée en STEP		Al-Ahmad et al. (1999)
				70-90%		Kümmerer (2001b)

Abréviations : LD = limite de détection ; pri = traitement primaire ; sec = traitement secondaire

Note : Ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Tableau 1.15 : Présence et devenir de certains antibiotiques et antibactériens dans les STEP (suite)

Substance	Classe d'antibiotique	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Élimination dans la STEP ou devenir	Remarque	Référence
<i>Roxithromycine</i>	Macrolide		0,68 - 1,00 (max)	50%	10 STEP urbaines en Allemagne	Ternes (2001) (Hirsch et al. (1999))
				40%	Traitement classique à boues activées + filtration + bio-filtre	Göbel et al. (2004)
<i>sulfaméthizole</i>	Sulfonamide	2,4	1,7		STEP à boues activées au Danemark	Jacobsen et al. (2003)
		2,4	1,7			Jacobsen et al. (2003)
<i>Triclosan</i>	Antibactérien (classe chimique : phénol)	1,200	0,051	95% ; 30% (dans la boue)		Baster (2004)
				(>) 90%		Schneider et al. (2004)
				91%	STEP à boues activées en Suède (avec élimination du phosphore et de l'azote)	Paxéus (2003)
<i>Trimethoprim</i>	Antibactérien (classe chimique : pyrimidine)		0,05		10 STEP à boues activées de 5 pays de U.E	Paxéus (2003)
				0%	STEP à boues activées en Suède (avec élimination du phosphore et de l'azote)	Paxéus (2003)

Abréviations : LD = limite de détection ; pri = traitement primaire ; sec = traitement secondaire

Note : Ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Tableau 1.15 : Présence et devenir de certains antibiotiques et antibactériens dans les STEP (suite)

1.3.4.4 Autres produits pharmaceutiques

Dans cette partie, nous présentons les autres composés pharmaceutiques recherchés dans les STEP. Afin d'unifier la classification, nous avons utilisé le classement thérapeutique proposé par les sites francophones et principalement la Banque de Données Automatisée sur les Médicaments (BIAM, 2004).

En fait, toutes les recherches réalisées sur la présence des composés médicaux dans les STEP se focalisent sur certaines catégories de composés. En conséquence, le devenir de composés médicaux -même dans une même catégorie- dans les STEP n'est pas certainement unique. Kümmerer (2001) a présenté la concentration de quelques groupes médicaux dans les eaux usées : analgésiques (2,4 - 20 µg/l), anti-cholestérols (1,0 - 1,7 µg/l), cytostatiques (jusqu'à 5 µg/l) et médicaments psychoactifs (anxiolytiques, hypnotiques, antidépresseurs) (< 1 µg/l). Nous présentons les données qui concernent plusieurs composés pharmaceutiques dans le tableau 1.16.

Substance	Classe thérapeutique principale	Concentration dans les eaux usées ($\mu\text{g/l}$)	Concentration dans l'effluent ($\mu\text{g/l}$)	Processus/devenir	Remarque	Référence
<i>4-Aminoantipyrine</i>	Analgésique/ Anti-inflammatoire	$0,78 \pm 0,27$	$0,36 \pm 0,09$	54% d'élimination	STEP à boues activées situées en zone rurale	Ternes et al. (2001)
<i>Paracétamol</i>	Analgésique		6,0		49 STEP urbaine	Ternes (1998)
			50 -1510		Effluent du décanteur	Halling-Sørensen et al. (1998)
			~ 1	Rapidement biodégradable	STEP	Halling-Sørensen et al. (1998)
				Rapidement dégradable	STEP	Halling-Sørensen et al. (1998)
		95	< 0,30		STEP à boues activées au Danemark	Jacobsen et al. (2003)
<i>Acide acétylsalicylique</i>	Analgésique /Anti-inflammatoire	2,5	10 (max.)	Facile biodégradation		Heberer (2002)
			< 0,20		STEP à boues activées au Danemark	Jacobsen et al, (2003)
<i>Amitriptyline</i>	Psychoanaleptique, Antidépresseur	0,20	0,22 - 2,1 (max.)		49 STEP urbaines	Ternes (2001)
			0,1		Non- biodégradable	Quelques STEP à Berlin
<i>Aténolol</i>	Antihypertenseur bêtabloquant			0% d'élimination	STEP	Halling-Sørensen et al. (1998)
			0,19		STEP à boues activées en Suède (avec l'élimination du phosphore et de l'azote)	Paxéus (2003)
<i>Bendrofluméthiazide</i>	Diurétique	< 0,30	< 0,30		10 STEP à boues activées de 5 pays de U.E	Paxéus (2003)
					STEP à boues activées au Danemark	Jacobsen et al. (2003)
<i>Bétaxolol</i>	Antihypertenseur Bêtabloquant		0,057 - 0,19 (max.)		29 STEP urbaines	Ternes (1998)
						Ternes (2001)

Abréviations : LD = limite de détection ; BA = Système à boues activées ; MBR = bioréacteur à membrane ; FB = filtration biologique
 Note : Ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Tableau 1.16 : Présence et devenir de certains composés pharmaceutiques dans les STEP

Substance	Classe thérapeutique principale	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Processus/devenir	Remarque	Référence	
<i>Bézafibrate</i>	Hypolipidémiant			95% d'élimination (dans BA & MBR)	Deux systèmes pilotes : BA et MBR	Clara et al. (2003)	
		1,2		50% (BA) - 27% (FB)	10 STEP (FB et BA)	Stumpf et al. (1999)	
		1,2	0,25 - 4,56				Zwiener et Frimmel (2000)
				> 90%	STEP en Autriche		Strenn et al. (2003)
		2,2 - 4,6 (max.)	64% d'élimination	49 STEP urbaines		Ternes (1998) Ternes (2001)	
<i>Bisoprolol</i>	Bêtabloquant		0,057 - 0,37 (max.)		29 STEP urbaines	Ternes (1998), Ternes (2001)	
<i>Bléomycine</i>	Antinéoplasique		0,011 - 0,019		Effluent des STEP	Halling-Sørensen et al. (1998)	
<i>caféine</i>	Psycholeptique, Analeptique cardiaque, Analeptique respiratoire	147 ± 76	0,19 ± 0,09	Rapidement biodégradable	STEP à boues activées situées en zone rurale	Ternes et al. (2001)	
		230	0,18	> 99,9% d'élimination	Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)	
			16 - 292	Rapidement biodégradable	STEP	Halling-Sørensen et al. (1998)	
<i>Carazolol</i>	Bêtabloquant		0,12 (max.)		49 STEP urbaines	Ternes (1998)	
<i>Carbamazépine</i>	Anticonvulsivant			0% d'élimination	STEP à boues activées en Suède (avec l'élimination du phosphore et de l'azote)	Paxéus (2003)	
			0,44		10 STEP à boues activées de 5 pays de U.E	Paxéus (2003)	
				0% d'élimination	Deux systèmes pilotes : BA et MBR	Clara et al. (2003)	
		1,78	1,63	8% d'élimination	Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)	
			2,1 - 6,3 (max.)	7% d'élimination	30 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)	
			1,075	< 10% d'élimination		Heberer (2002)	
				0 %	STEP en Autriche	Strenn et al. (2003)	

Abréviations : LD = limite de détection ; BA = Système à boues activées ; MBR = bioréacteur à membrane ; FB = filtration biologique

Note : Ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Tableau 1.16 : Présence et devenir de certains composés pharmaceutiques dans les STEP (suite)

Substance	Classe thérapeutique principale	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Processus/devenir	Remarque	Référence
<i>Clenbuterol</i>	Produit destiné à traiter la pathologie asthmatique (bêta-sympathomimétique)		0,8 (max.)		49 STEP urbaines	Ternes (1998)
<i>Acide clofibrique</i>	Hypolipidémiant, hypocholestérolémiant				STEP	Halling-Sørensen et al. (1998)
				Aérobic = 1 - 5 Anoxie = 26 - 30	Deux systèmes pilotes: biofilm aérobic et biofilm anaérobic *	Zwiener et al. (2001)
		1,0		34% (BA) – 15% (FB)	10 STEP (BA et FB)	Stumpf et al. (1999)
			0,36 – 1,6 (max.)	51% d'élimination	49 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
		0,46	0,48	Pas d'élimination	Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
			0,46 – 1,56 < 50 – 1560		Effluent du bassin de sédimentation	Zwienger et Frimel (1998) Halling-Sørensen et al. (1998)
<i>Cyclophosphamide</i>	Antinéoplasique	~ 0,001		Pas d'adsorption et ni biodégradation		Ternes (1998)
		< 0,006 – 0,143	PD – 0,017	17% (dégradation)	Deux méthodes appliquées en laboratoire	Steger-Hartmann et al. (1999)
			0,0205 (max.)		49 STEP urbaines	Ternes (1998)
				Non- dégradable	Echelle du laboratoire	Halling-Sørensen et al. (1998)
				Aérobic = 1 – 5 % Anoxie = 26 – 30 %	Deux systèmes pilotes : biofilm aérobic et biofilm anaérobic *	Zwiener et al. (2001)
		0,146			Effluent d'hôpital	Halling-Sørensen et al. (1998)

Abréviations : LD = limite de détection ; BA = Système à boues activées ; MBR = bioréacteur à membrane ; FB = filtration biologique ; PD = pas de détection

Note : Ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

* C (O₂) aérobic > 2mg/l, C (O₂) anaérobic < 1mg/l

Tableau 1.16 : Présence et devenir de certains composés pharmaceutiques dans les STEP (suite)

Substance	Classe thérapeutique principale	Concentration dans les eaux usées g/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Processus/devenir	Remarque	Référence
<i>Diazépam</i>	Psycholeptique, Anticonvulsivant, Tranquillisant		0,030 (< LD) - 0,04 (max)		20 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
<i>Diclofénac</i>	Anti-inflammatoire		0,005 - 1,59			Zwienger et Frimel (1998)
			2		Effluent du bassin de sédimentation	Ternes (1998)
		3,02	2,51	17% d'élimination		Heberer (2002)
			2		Effluent du bassin de sédimentation	Halling-Sørensen et al. (1998)
		0,78	0,40	75% (BA) - 9% (FB)	10 STEP (FB et BA)	Stumpf et al. (1999)
				Aérobic = 1 - 5 % Anoxie = 34 - 38 %	Deux systèmes pilotes: biofilm aérobic et biofilm anaérobic *	Zwiener et al. (2001)
				0 - 25% (dépend de l'âge des boues)	STEP en Autriche	Strenn et al. (2003)
			0,29		10 STEP à boues activées de 5 pays de U.E	Paxéus (2003)
			0,81- 2,1(max.)	69% d'élimination	49 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
		40 - 60% en BA	Deux systèmes pilotes (BA et MBR)	Clara et al. (2003)		
		39% d'élimination	STEP à boues activées en Suède (avec l'élimination du phosphore et de l'azote)	Paxéus (2003)		
<i>Diméthylaminophénazone</i>	Analgésique/Anti-inflammatoire		1,0 (max.)	38% d'élimination	49 STEP urbaines	Ternes (1998)
<i>Enalapril</i>	Inhibiteur de l'enzyme de conversion, Antihypertenseur	< 0,10	< 0,10	Pas d'élimination	STEP à boues activées au Danemark	Jacobsen et al. (2003)

Abréviations : LD = limite de détection ; BA = Système à boues activées ; MBR = bioréacteur à membrane ; FB = filtration biologique

Note : Ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

* C (O₂) aérobic > 2mg/l, C (O₂) anaérobic < 1mg/l

Tableau 1.16 : Présence et devenir de certains composés pharmaceutiques dans les STEP (suite)

Substance	Classe thérapeutique principale	Concentration dans les eaux usées(µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Processus/devenir	Remarque	Référence
<i>Fénofibrate</i>	hypolipidémiant		0,03		49 STEP urbaines	Ternes (1998)
			0,05 - 1,2		Rapport d'autres travaux	Zwienger et Frimel (1998)
			0,38 - 1,2 (max.)	64% d'élimination		Ternes (1998) Ternes (2001)
		0,42		45% (BA) - 6% (FB)	10 STEP (Filtre biologique et BA)	Stumpf et al. (1999)
<i>Fénotérol</i>	bêta- sympathomimétique		0,060		49 STEP urbaines	Ternes (1998)
<i>Furosémide</i>	Diurétique	2,4	4,2		STEP à boues activées au Danemark	Jacobsen et al. (2003)
<i>Gemfibrozil</i>	Hypolipidémiant		0,07-1,5		Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
				55% d'élimination	STEP à boues activées en Suède (avec l'élimination du phosphore et d'azote)	Paxéus (2003)
			0,40 - 1,5	69% d'élimination	49 STEP urbaines	Ternes (1998)
			0,56		10 STEP à boues activées de 5 pays de U.E	Paxéus (2003)
		0,32		46% (BA) - 16% (FB)	10 STEP (Filtre biologique et BA)	Stumpf et al. (1999)
<i>Acide Gentisique</i>	Analgésique		0,59 (max.)		10 STEP (Filtre biologique et BA)	Ternes (1998)
<i>Ibuprofène</i>	Anti-inflammatoire		0,87		STEP en Suisse	Heberer (2002), Zwiener et al. (2001)
			0,1		Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
			12		Sortie du bassin de sédimentation (BF et BA)	Halling-Sørensen et al. (1998)

Abréviations : LD = limite de détection ; BA = Système à boues activées ; MBR = bioréacteur à membrane ; FB = filtration biologique

Note : Ce tableau a été réalisé en valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Tableau 1.16 : Présence et devenir de certains composés pharmaceutiques dans les STEP (suite)

Substance	Classe thérapeutique principale	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Processus/devenir	Remarque	Référence
<i>Ibuprofène</i>	Anti-inflammatoire		0,05 – 3,35	96 - 99,9% d'élimination		Zwienger and Frimel (1998)
			0,37 – 3,4 (max)	90% d'élimination	49 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
		0,32		75% (BA), 22% (BF)	STEP en Autriche	Stumpf et al. (1999)
				Aérobie = 64 – 70 % Anoxie = 17-21 %	Deux systèmes pilotes: biofilm aérobie et biofilm anaérobie *	Zwiener et al. (2001)
				95% d'élimination (dans BA & MBR)	Etude sur deux systèmes pilotes : BA et MBR	Clara et al. (2003)
		6,1	0,30 - <0,1		STEP à boues activées au Danemark	Jacobsen et al. (2003)
				80 - 100 % (MBR) 14,4 - 44% (BA)	Traitement classique; filtration et biofiltre	Göbel et al. (2004)
			0,11		10 STEP à boues activées de 5 pays de U.E	Paxéus (2003)
				96% d'élimination	STEP à boues activées en Suède (avec'élimination du phosphore et d'azote)	Paxéus (2003)
<i>Ifosfamide</i>	Antinéoplasique			Non dégradable	Echelle : Laboratoire	Halling-Sørensen (1998)
		0,0062-0,0085	0,0065 - 0,0093	Pas d'adsorption ni de biodégradation	STEP urbaines (+ effluent de quelques hôpitaux)	Kümmer et al. (1997)
			0,0029 (max.)		49 STEP urbaines	Ternes (1998)
		0,024			Effluent d'hôpital	Halling-Sørensen (1998)
<i>Indométacine</i>	Anti-inflammatoire, analgésique	0,95		83% (BA) - 71% (BF)	10 STEP (BA et BF)	Stumpf et al. (1999)
			0,027 - 0,60 (max.)	75% d'élimination	49 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
		0,08	0,08	Pas d'adsorption ni de biodégradation	Quelques STEP à Berlin (Rapport d'autres travaux)	Heberer (2002 b)

Abréviations : LD = limite de détection ; BA = Système à boues activées ; MBR = bioréacteur à membrane ; FB = filtration biologique

Note : Ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

* C (O₂) aérobie > 2mg/l, C (O₂) anaérobie < 1mg/l

Tableau 1.16 : Présence et devenir de certains composés pharmaceutiques dans les STEP (suite)

Substance	Classe thérapeutique principale	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Processus/devenir	Remarque	Référence
<i>Kétoconazole</i>	Antifongique	0,27	< 0,20		STEP à boues activées au Danemark	Jacobsen et al. (2003)
<i>Kétoprofène</i>	Anti-inflammatoire	0,3	0,23		Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
			0,20 – 0,38 (max.)		Quelques STEP à Berlin	Ternes (1998) Ternes (2001)
<i>Métoprolol</i>	Antihypertenseur, Bêtabloquant	0,55		59% (BA) - 48% (BF)	10 STEP (BA et BF)	Stumpf et al. (1999)
			0,73 – 2,2 (max.)	83% d'élimination	29 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
			0,025		49 STEP urbaines	Ternes (1998)
<i>Naproxène</i>	Anti-inflammatoire			Non dégradable	STEP	Halling-Sørensen et al. (1998)
				80% d'élimination	STEP à boues activées en Suède (avec élimination du phosphore et de l'azote)	Paxéus (2003)
			0,41		10 STEP à boues activées des 5 pays de U.E	Paxéus (2003)
			0,62	78% (BA) - 15% (FB)	10 STEP (FB et BA)	Stumpf et al. (1999)
<i>Oxazépan</i>	Psycholeptique	0,92	0,30 – 0,52 (max.)	66% d'élimination	10 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
			0,44	0,08	Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
<i>Phénazone</i>	Anti-inflammatoire, analgésique	0,92	0,16 – 0,41 (max.)	33% d'élimination	29 STEP urbaines	Ternes (1998), Ternes (2001)
			0,52		Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
<i>Phénobarbital</i>	Hypogène, Anticonvulsivant		0,03		Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
<i>Phénytoïne</i>	Anticonvulsivant	0,05	0,1		Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
<i>Primidone</i>	Anticonvulsivant	1,08	0,14		Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)

Abréviations : LD = limite de détection ; BA = Système à boues activées ; MBR = bioréacteur à membrane ; FB = filtration biologique

Note : Ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Tableau 1.16 : Présence et devenir de certains composés pharmaceutiques dans les STEP (suite)

Substance	Classe thérapeutique principale	Concentration dans les eaux usées (µg/l)	Concentration dans l'effluent (µg/l)	Processus/devenir	Remarque	Référence
<i>Propranolol</i>	Antihypertenseur, Bêtabloquant		0,17 – 0,29 (max.)	96% d'élimination	29 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
<i>Propyphénazone</i>	Analgésique	1,08	0,39	Pas d'adsorption et ni Biodégradation	Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
		0,12 ± 0,09	0,18 ± 0,02	Pas d'élimination dans STEP	14 STEP à boues activées situées en zone rurale	Ternes et al. (2001)
<i>Salbutamol</i>	Sympathomimétique		0,50 (<LD) - 0,17 (max)		29 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
<i>Acide Salicylique (premier métabolite d'Acide Acétyle Salicylique)</i>	Kératolytique, Anti-inflammatoire, Analgésique	70	< 0,20		STEP à boues activées au Danemark	Jacobsen et al. (2003)
		0,34	0,04	Comparaison directe impossible	Quelques STEP à Berlin	Heberer (2002 b)
			0,05 (<LD) - 0,14 (max)	81- 99% d'élimination	36 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
		0,34	0,04	Facilement dégradable		Heberer (2002)
<i>Terbutaline</i>	Sympathomimétique		0,5 - 1,51			Zwienger et Frimel (1998)
			0,05 (<LD) - 0,012 (max)		29 STEP urbaines	Ternes (1998) Ternes (2001)
<i>Théobromine</i>	Diurétique		< 0,20		STEP à boues activées au Danemark	Jacobsen et al. (2003)
				Rapidement dégradable	STEP	Halling-Sørensen et al. (1998)
<i>Timolol</i>	Bêtabloquant		0,07 (max)		49 STEP urbaines	Ternes (1998)
<i>Tolbutamide</i>	Hypoglycémiant			Non dégradable	STEP	Halling-Sørensen et al. (1998)
<i>Tolfénamique acide</i>	Anti-inflammatoire (médicament vétérinaire)		1,6 (max)		10 STEP (filtre biologique et BA)	Stumpf et al. (1999)

Abréviations : LD = limite de détection ; BA = Système à boues activées ; MBR = bioréacteur à membrane ; FB = filtration biologique

Note : Ce tableau a été réalisé à partir des valeurs moyennes (sauf indication contraire)

Tableau 1.16 : Présence et devenir de certains composés pharmaceutiques dans les STEP (suite)

1.3.5 Antibiotiques de type macrolide

Les antibiotiques peuvent être classifiés comme des bactéricides ou des bactériostatiques. Un bactéricide est une substance qui tue seulement les bactéries directement. Les bactéricides sont des désinfectants (comme l'hypochlorite), des antiseptiques (comme le peroxyde d'hydrogène) ou des antibiotiques (comme la pénicilline). Les antibiotiques bactériostatiques (comme les tétracyclines et macrolides) empêchent la croissance des bactéries par l'inhibition de la production de protéines ou d'ADN ou d'autres voies du métabolisme cellulaire.

Cependant, une autre classification des antibiotiques est basée sur leur mode d'action :

- action sur la paroi comme les β -lactamines (pénicilline),
- action sur la membrane (comme des polymyxines),
- action sur la synthèse des protéines ; y compris le ribosome (comme les macrolides), l'inhibition du facteur d'élongation, l'inhibition de l'aminoacyl-ARNt synthétase,
- action sur l'ADN ; blocage de transcription de réplication ou de synthèse des acides aminés,
- action comme analogue de vitamines.

Les antibiotiques de type macrolide sont des médicaments d'usage courant indiqués principalement en cas d'infection génitale, oto-rhino-laryngologique, pulmonaire et en cas d'atteinte par la toxoplasmose. Leur activité provient de la présence sur la molécule d'un « anneau macrolide », en fait un anneau lactone auquel un ou plusieurs déoxy-sucres¹² sont attachés par l'intermédiaire de liens glycosidiques. Dans la plupart des macrolides l'anneau lactone contient 14, 15, ou 16 atomes (Kanfer et al., 1998).

Les principaux antibiotiques macrolides sont l'érythromycine, l'azithromycine, la clarithromycine, la carbomycine, la roxithromycine et la tylosine. Ils sont utilisés contre une grande variété de bactéries Gram⁺ et Gram⁻. Entre 50 et 67% de la dose consommée est excrétée par l'intermédiaire de la bile et des résidus. D'après Mcardell et al. (2004), on peut trouver une partie de ces composés inchangés dans l'urine : 10-20% pour la clarithromycine, 30% pour la roxithromycine, 10-20% pour la spiramycine, 6-12% pour l'azithromycine, et 5-10% pour l'érythromycine. Tous les macrolides sont eux très fortement métabolisés, sauf l'érythromycine, dont le métabolite principal est un produit inactif avec une perte apparente de l'eau (érythromycin-H₂O). Ces antibiotiques sont des molécules lipophiles.

La consommation des antibiotiques et spécialement des macrolides est considérable en médecine humaine et vétérinaire. Par exemple en Suisse 30 et 55 tonnes/an d'antibiotiques sont consommés par les êtres humains et les animaux, respectivement. Les antibiotiques macrolides correspondent à 4,3 tonnes de la consommation annuelle chez les humains. Les consommations des autres groupes sont les suivants : sulfonamide = 5,1 tonnes/an ; fluoroquinolones = 39 tonnes/an et bêtalactamine (céphalosporine et pénicilline) = 17,5 tonnes/an. En Suisse, la consommation hors hôpitaux des macrolides en 1999 s'est élevée à 1,74 tonnes pour la clarithromycine, 0,32 tonnes pour l'azithromycine, 0,26 tonnes pour la spiramycine, 0,17 tonnes pour l'érythromycine et 0,15 tonnes pour la roxithromycine. 20-40% de la consommation totale de macrolides provient des hôpitaux.

Les macrolides ont été détectés dans plusieurs STEP dans les pays européens (voir le tableau 1.13). Göbel et al. (2004) ont trouvé de faibles concentrations d'érythromycine (6 ng/l), de clarithromycine (2 ng/l) et la roxithromycine (1 ng/l) même après traitement tertiaire (filtration sur sable).

1.3.5.1 Erythromycine

¹² Les déoxy-sucres sont les sucres qui ont un groupe hydroxyle remplacé par un hydrogène.

L'érythromycine est produite par une souche de *Streptomyces erythreus* et est employée principalement contre les bactéries Gram⁺. Bien que sa première utilisation remonte à 1952, c'est toujours l'un des antibiotiques les plus largement utilisés et qui s'est avéré être un traitement sûr et efficace pour traiter les infections à *Chlamydia*, la syphilis et la gonorrhée (Amin et al., 1996).

La structure chimique de l'érythromycine est présentée dans la Figure 1.16. L'érythromycine inhibe la synthèse protéique par action sur le rRNA 23S de la sous-unité 50S ribosomale. Ce processus de liaison inhibe l'activité de peptidyl transférase et empêche la translocation des acides aminés pendant la traduction et l'assemblage des protéines. Le tableau 1.17 montre les caractéristiques principales de l'érythromycine.

A partir des bases de données, nous avons construit le tableau 1.18 qui présente la consommation de l'érythromycine dans quelques pays européens et aux Etats-Unis.

L'érythromycine-H₂O a été détectée dans tous les milieux aquatiques : dans les rivières jusqu'à 1,7 µg/l (Kolpin et al., 2002), dans les eaux souterraines jusqu'à 49 ng/l (Sacher et al., 2001). Dans les eaux usées des STEP en Suisse, il en a été détecté jusqu'à 67 ng/l (Göbel et al., 2004). Les concentrations maximales en érythromycine-H₂O qui ont été trouvées dans les effluents de STEP en Allemagne, en Suisse et aux États-Unis varient entre 0,005 et 6 µg/l (Hirche et al., 1999, Göbel et al., 2004, Yang et al., 2006). Cette diversité dépend des méthodes d'analyse et d'extraction et des caractéristiques de l'eau usée.

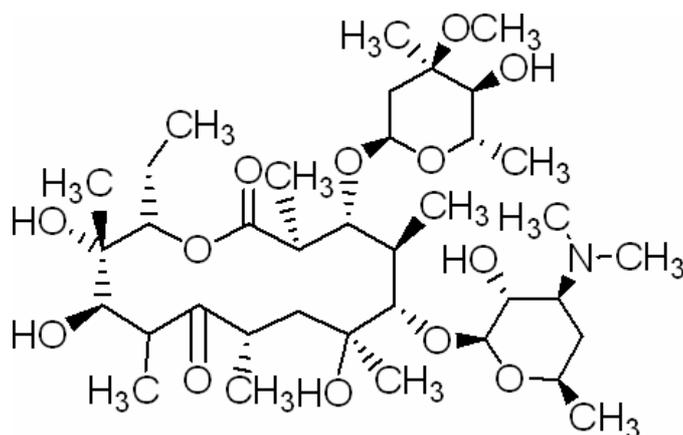


Figure 1.16 : Structure chimique de l'érythromycine

Nom systématique (IUPAC ¹³)	6-(4-diméthylamino-3-hydroxy-6-méthyl-oxan-2-yl)oxy-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-4-(5-hydroxy-4-méthoxy-4,6-diméthyl-oxan-2-yl)oxy-3,5,7,9,11,13-hexaméthyl-1-oxacyclotétradécane-2,10-dione
Numéro CAS	114-07-8
Code ATC	J01FA01
Formule empirique	C ₃₇ H ₆₇ NO ₁₃
Masse moléculaire	733,93
pK _a (constante de dissociation)	8,8
Bio disponibilité	100%
Demi-vie (t _{1/2})	1,5 heures
Métabolisme	Hépatique
Excrétion	Bile

Tableau 1.17 : Données chimiques et pharmacocinétiques sur l'érythromycine

¹³ The international union of pure and applied chemistry

Pays	Référence	Consommation totale d'érythromycine (tonnes/an)	Consommation individuelle estimée (mg/an par personne)
Royaume-Uni	Webb (2001a)	67,7	
Angleterre	Jones et al. (2002)	26	
Etats-Unis	Schwab et al. (2005)	126,1	
Allemagne	Hirsch et al. (1999)	3,9-19,8	
Suisse	Mcardell et al. (2004)		33
France	Janex et al. (2002)		300
Autriche	Mcardell et al. (2004)		97

Tableau 1.18 : Consommation de l'érythromycine dans six pays européens et aux Etats-Unis

1.3.5.2 Tylosine

La tylosine est le produit de la fermentation de *Streptomyces fradiae* et elle est employée contre les bactéries Gram⁺ et certaines bactéries Gram⁻. Comme l'érythromycine, la tylosine inhibe la synthèse de protéine par action sur la sous-unité 50S du ribosome. La figure 1.17 montre la structure chimique de la tylosine. Sa constante de dissociation ($pK_a = 7,1$) signifie qu'elle est une base très faible.

La tylosine est un antibiotique largement utilisé par les vétérinaires :

- pour traiter des porcs infectés par *Treponema hyodysenteriae* (la dysenterie du porc) (Loke et al., 200);
- pour traiter des colites chroniques chez les petits animaux (tels que les chiens et les chats);
- contre les infections provoquées par les organismes sensibles à cet antibiotique chez le bétail, les porcs et les moutons (Yang et al., 2006).

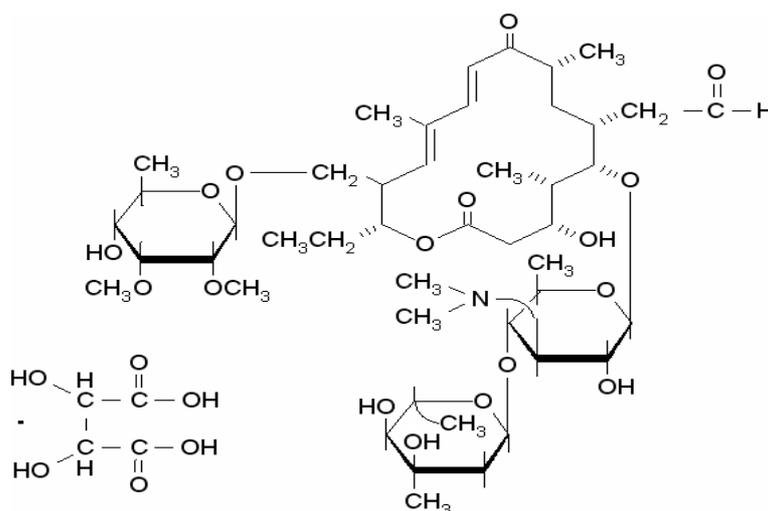


Figure 1.17 : Structure chimique de la tylosine

Il faut noter que l'Union Européenne a interdit l'utilisation de la tylosine pour stimuler la croissance des animaux depuis 1999.

Parmi les macrolides, la tylosine est l'antibiotique le plus fréquemment détecté aux Etats-Unis dans les systèmes de drainage agricole (Huang et al., 2001). Kolpin et al., (2002) ont analysé 139 ruisseaux aux Etats-Unis où ils ont mesuré jusqu'à 0,28 µg/l de tylosine. Dans le même travail la présence de médicaments dans tous les ruisseaux étudiés a été évaluée. La tylosine avec 13% de présence est un antibiotique très présent dans les rivières. Elle est classée en cinquième position après le triméthoprim 27%, l'érythromycine-H₂O 22%, la lincomycine 19% et la sulfaméthoxazole 19%.

1.3.5.3 Effet des antibiotiques de type macrolide sur les bactéries

Aujourd'hui le mode d'action des antibiotiques est un sujet important d'étude (Davies et al., 2006). En général on peut classer les mécanismes d'action des antibiotiques en cinq catégories selon la molécule et le lieu d'action (Neu et al., 2001) : antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne, sur la synthèse protéique, sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs, sur la membrane cytoplasmique et sur la métabolisme de l'acide folique (figure 1.18).

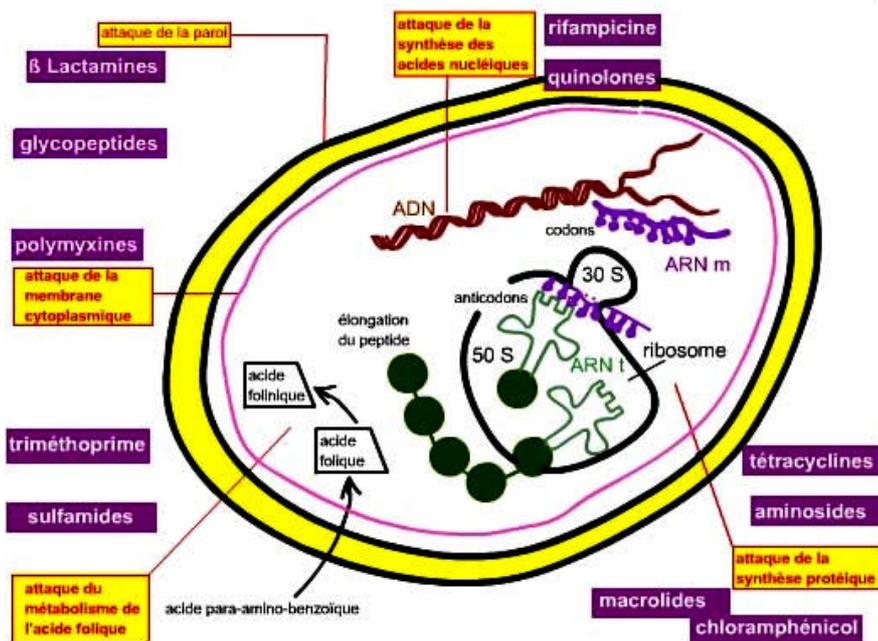


Figure 1.18 : Mode d'action des antibiotiques (Bessard , 2006)

Comme on l'a déjà expliqué, l'érythromycine inhibe la synthèse protéique. Selon la littérature l'érythromycine est active contre les bactéries Gram⁺ et quelques bactéries Gram⁻ dont *Haemophilus*, *Mycoplasma*, *Chlamydia* et *Legionella* (Neu et al., 2001).

Dans le cas de bactéries Gram⁻, la résistance intrinsèque aux antibiotiques de type macrolide comme l'érythromycine est due à l'imperméabilité relative de la membrane externe des bactéries et la nature hydrophobique de ces antibiotiques (Pechère, 2001). Depuis les années 1980, quelques macrolides comme l'azithromycine ont été développées contre certaines bactéries Gram⁻ (e.g. *Escherichia coli* et *Shigella*). Cela signifie que ces antibiotiques peuvent

pénétrer la membrane externe (Vaara, 1993). Certains travaux récents étudient l'effet de l'érythromycine sur le « potentiel de membrane » des bactéries et sur la perméabilité de la membrane (Novo et al., 2000 ; Tsubery et al., 2005).

L'étude de l'effet des antibiotiques sur le système de communication bactérienne appelé « quorum sensing » (QS) est un autre sujet de travaux récents (Bassler et al., 2006). Le mécanisme du « quorum sensing » a été découvert initialement sur des bactéries marines bioluminescentes en 1960. En fait, la communication intercellulaire n'est pas exceptionnelle. Elle est fondamentale pour toute la microbiologie. Le « quorum sensing » est un mécanisme qui permet aux bactéries de fonctionner comme des organismes multicellulaires et de récolter des avantages qu'elles ne pourraient jamais obtenir si elles agissaient toujours de manière isolée. Les bactéries qui utilisent le « quorum sensing » produisent des signaux moléculaires appelés autoinducteurs. Les deux principaux signaux moléculaires connus chez les bactéries Gram⁻ et Gram⁺ sont les acylhomosérines lactones (AHL) et les peptides, respectivement. A basse densité cellulaire, la diffusion réduit rapidement la concentration de l'autoinducteur dans l'environnement bactérien. Au contraire, à haute densité cellulaire, la concentration de l'autoinducteur dépasse un seuil critique, autorisant sa perception par les bactéries qui le produisent. Cette perception active très souvent la surproduction du signal autoinducteur, conduisant ainsi à une boucle de rétroaction positive permettant de synchroniser sa perception au sein de la population microbienne. L'effet du quorum-sensing sur la formation de biofilms et la résistance aux antibiotiques a fait l'objet de plusieurs études (Shih et al., 2002 ; Balaban et al., 2003 ; Otto, 2004).

D'autre part l'effet des antibiotiques de type macrolide sur la formation de biofilm (Clarithromycine sur *Mycobacterium avium*, Carter et al., 2004) et le « quorum sensing » (Azithromycine sur *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, Davies et al., 2006) a été démontré. Tateda et al. (2004) supposent que les macrolides (et notamment l'érythromycine) sont capables d'inhiber le « quorum sensing ». Nalca et al., (2006) ont confirmé l'effet de l'azithromycine (un macrolide) sur le mécanisme du « quorum sensing » de *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas aeruginosa* est un organisme très répandu qui forme un biofilm, lequel joue un rôle important dans les interactions de la bactérie avec son environnement (Kuchma et al., 2000). Des recherches récentes montrent qu'il existe deux souches de bactéries *Acidovorax temperans* (des bactéries de la famille *Pseudomonas*) importantes dans la formation des floes des boues activées (Daims et al., 2006).

Globalement, la sensibilité des bactéries à l'érythromycine est très variable. Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) vont de 15 µg/l à 128 mg/l (Laboratoire de bactériologie clinique de la faculté de pharmacie de Lille, base de données CMI).

1.3.5.4 Effet des antibiotiques de type macrolide sur les bactéries nitrifiantes

L'effet des antibiotiques de type macrolide sur le procédé de nitrification n'est pas beaucoup étudié. Halling-Sørensen (2001) a étudié la toxicité de composés antibactériens en utilisant les boues activées. L'inhibition de la nitrification par quelques antibiotiques (y compris la tylosine) ont été étudiés. Selon cette étude la toxicité (la valeur EC₅₀) de la tylosine est de 54,7 mg/l. Des données plus précises pour l'inhibition de *Nitrosomonas europaea* ont été trouvées pour une culture libre des bactéries nitrifiantes. La NOECs trouvée (cf. §§ 1.3.3.2) pour la tylosine était de 50 mg/l.

Gomez et al., (1997) ont étudié l'effet de l'ampicilline (entre 0 et 250 mg/l), de la benzylpénicilline (entre 0 et 250) mg/l, de l'oxytétracycline (entre 0 et 250 mg/l) et du chloramphénicol (entre 0 et 50 mg/l) sur la processus de nitrification. Ils n'ont pas détecté d'effet remarquable sur la biomasse et la production de nitrate. Dans une autre étude, Campos et al., (2001) ont obtenu les mêmes résultats avec le chloramphénicol (entre 10 et 250 mg/l).

Ils ont également trouvé que le chlorhydrate d'oxytétracycline inhibe la nitrification pour une concentration entre 100 et 250 mg/l. De plus, avec une concentration inférieure à 100 mg/l, l'inhibition de la nitrification n'est pas observée.

Carucci et al. (2006) ont montré que la lincomycine (un antibiotique de la famille des lincosamides) inhibe visiblement la nitrification dans un réacteur de type SBR. Les manipulations ont été réalisées pour différents âges de boues (8 et 14 jours), différentes conditions biochimiques (anoxie-aérobie ou aérobie) et différentes concentrations de l'antibiotique (2, 3 et 5 mg/l). Il faut noter que ce type d'antibiotique est semblable aux macrolides par sa structure, son spectre antibactérien et son mécanisme de l'action.

1.4 Évaluation des données

Dans cette partie nous avons résumé les données trouvées dans plus de 75 articles. Elles ont été comparées et analysées à l'aide de Microsoft Excel® et M.S Access®. Les concentrations et les pourcentages donnés sont ainsi des valeurs représentatives de l'ensemble des valeurs présentées dans les articles. Les articles utilisés dans cette base de données sont repérés, dans la partie références bibliographiques à la fin de ce mémoire, par une étoile.

1.4.1 Médicaments les plus utilisés

Concernant la consommation des médicaments, nous avons fait un calcul sur la base des données présentées dans la partie 1.3.3.1. Pour faire une comparaison plus exacte, nous avons utilisé la population de chaque pays pour l'année de recherche et calculé la consommation de médicament par et an par personne. Les figures 1.19, 1.20 et 1.21 montrent les résultats obtenus pour dix médicaments les plus utilisés en Allemagne, au Royaume-Uni et aux Etats-Unis, respectivement.

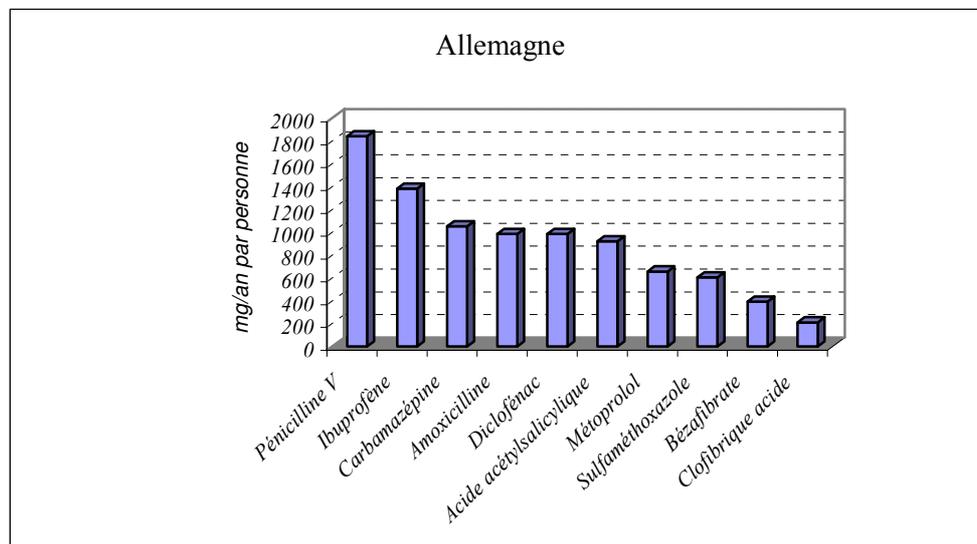


Figure 1.19 : Consommation estimée annuelle en 1993-1995 des 10 médicaments les plus utilisés en Allemagne

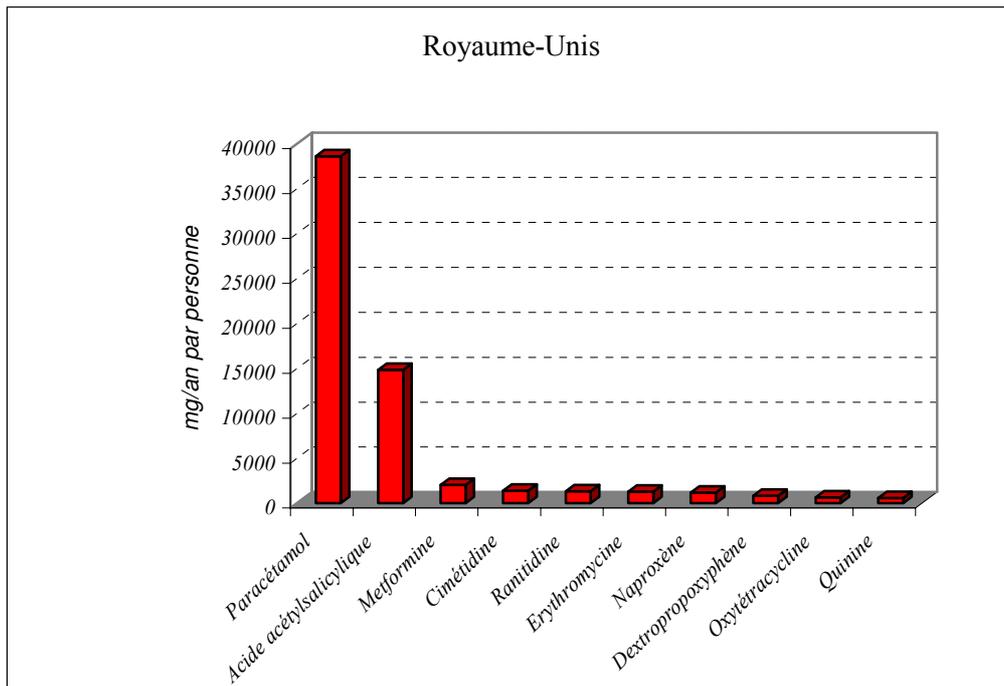


Figure 1.20 : Consommation estimée annuelle en 1995 des 10 médicaments les plus utilisés au Royaume-Uni

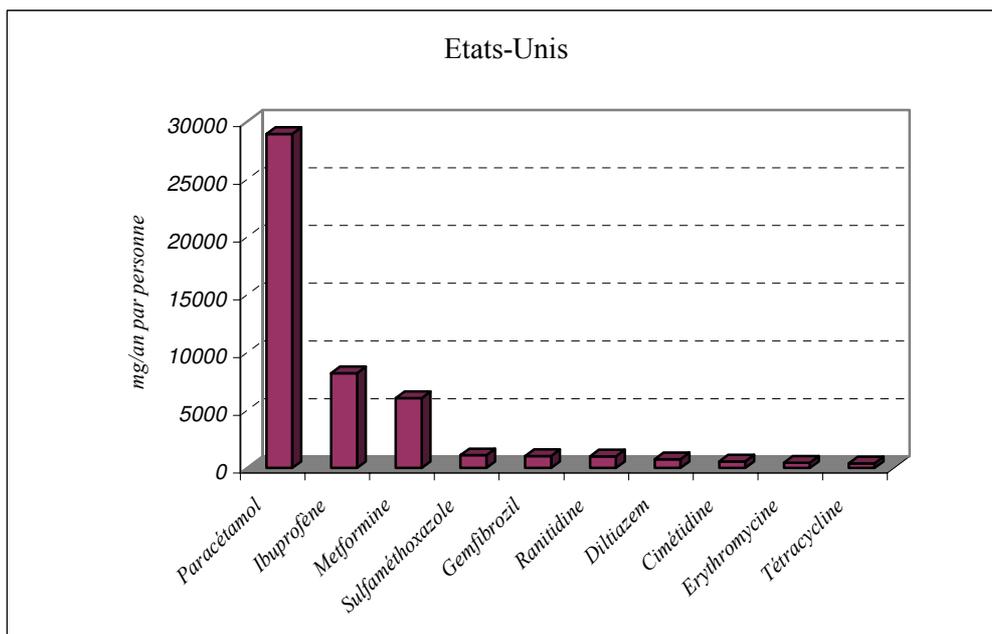


Figure 1.21 : Consommation estimée annuelle en 2000 des 10 médicaments les plus utilisés aux Etats-Unis

On voit que dans ces pays les médicaments les plus consommés sont les analgésiques (comme la paracétamol), les anti-inflammatoires (comme l'acide acétylsalicylique) et les antibiotiques (par exemple la pénicilline V).

Pour se forger une idée sur les groupes de médicament les plus consommés, nous avons analysé avec Microsoft Access® les données présentées dans les figures 1.19 à 1.21 et les chiffres liés aux composés pharmaceutiques les plus utilisés au Danemark (tableau 1.7). La figure 1.22 présente cette analyse.

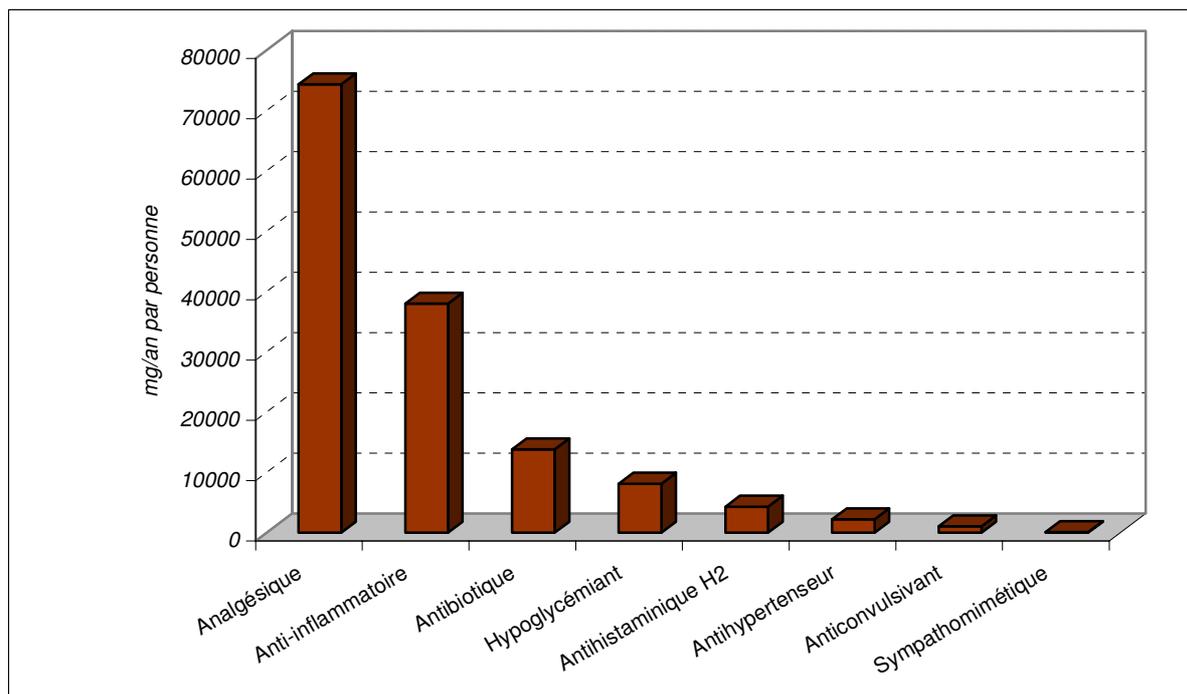


Figure 1.22 : Les groupes de médicaments les plus consommés dans quatre pays ; Allemagne (1993-1995), Danemark (1997), Royaume-Uni (1995) et USA (2000)

Les antibiotiques arrivent en troisième position en terme de consommation après les analgésiques et les anti-inflammatoires. Ce résultat est confirmé par d'autres documents de la littérature (voir les parties 1.3.3.1 et 1.3.4.3).

Selon les travaux présentés dans la partie 1.3.3.2 (Toxicologie et Risque), le ratio de PEC/PNEC des médicaments analgésiques (paracétamol), anti-inflammatoires (acide acétylsalicylique) et antibiotiques (amoxicilline et oxytétracycline) passe à 1 au Danemark et en Angleterre. Ce résultat est tout à fait lié avec notre analyse de la consommation ; les médicaments les plus consommés étant ceux que l'on retrouve le plus dans l'environnement.

1.4.2 Présence et devenir des analgésiques et des anti-inflammatoires dans les STEP

Ces groupes de médicaments sont les plus consommés dans plusieurs pays (partie 1.4.1). La figure 1.23 (basée sur le tableau 1.16) montre la présence relative de ces groupes par rapport à d'autres médicaments très courants.

Dans les classes d'analgésiques, on trouve plusieurs groupes de médicaments comme les analgésiques centraux morphiniques (tel que la morphine ou la codéine), les analgésiques centraux non morphiniques et les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Les deux médicaments les plus connus dans ce dernier groupe sont l'acide acétyl-salicylique et l'ibuprofène. On a rassemblé les analgésiques et les anti-inflammatoires dans une catégorie. L'analyse des données (la figure 1.22 et le tableau 1.16) a montré que les analgésiques/anti-inflammatoires (paracétamol, ibuprofène, diclofénac...), les anti-cholestérols (bézafibrate, acide clofibrigue, gemfibrozil...), les cytostatiques (cyclophosphamide, ifosfamide...) et les bêta-bloquants (énalapril, métoprolol...) présentent les concentrations les plus élevées dans les eaux usées.

Les concentrations dans les effluents des STEP sont non négligeables, bien que les rendements d'épuration soient quelquefois très grands :

- les analgésiques/anti-inflammatoires, par exemple pour l'acide acétyl-salicylique le rendement d'épuration est de 99 %, l'ibuprofène 95 % et le diclofénac 70 % ;

- les bêta-bloquants, par exemple le propranolol 96 % et le métoprolol 83 % ;
- les anti-cholestérols, par exemple le bézafibrate 90 %, l'acide clofibrique 45 % et le gemfibrozil 46 % ;
- d'autre part, certains composés ne sont pas biodégradables : le méprobamate, le chlorhexidine, le naproxène (Halling-Sørensen et al., 1998).

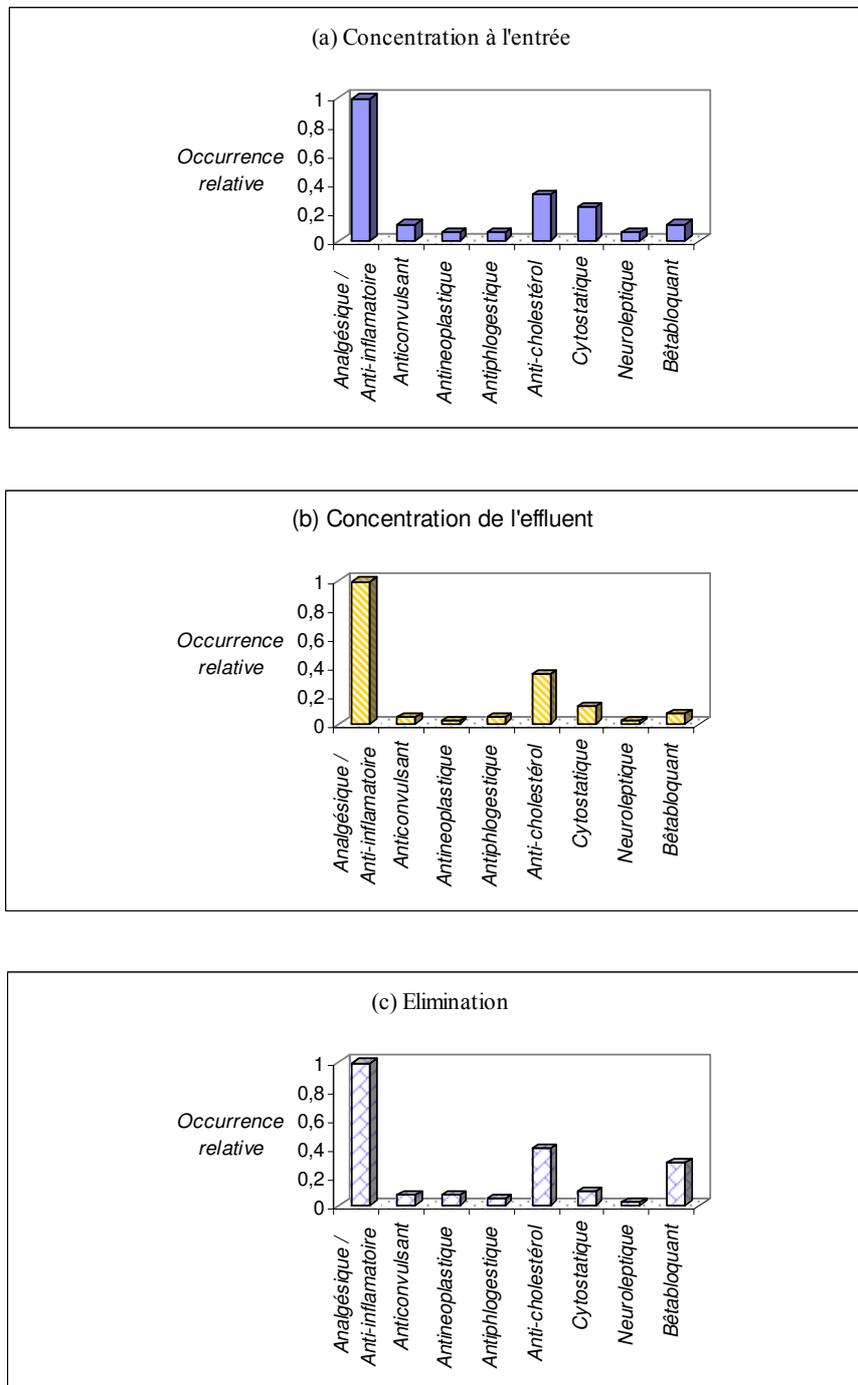


Figure 1.23 : Présence des certains groupes de médicaments dans les STEP

1.4.3 Présence des hormones dans les STEP

Les hormones, comme beaucoup de produits pharmaceutiques, sont trouvées sous une forme conjuguée dans l'environnement. Cependant on peut aussi les rencontrer sous forme libre, car les bactéries des STEP permettent leur 'dé-conjugaison'. Dans les eaux traitées par les STEP, le taux d'oestrogène ainsi dé-conjugué atteint 50% (Kozak et al., 2001).

Des analyses de E2 et EE2 ont montré qu'une grande quantité d'hormones est adsorbée sur les boues de station d'épuration : E2 28 % et EE2 68 %. Cela permet de dire que les boues réutilisées en agriculture participent à la pollution du sol ainsi que celle des eaux souterraines (Komori et al., 2003).

Les figures 1.24 et 1.25 sont issues de la synthèse du tableau 1.13. Elles présentent les concentrations et pourcentages d'élimination des hormones dans les STEP étudiées. Les plus fortes concentrations sont de l'ordre de la centaine de nano-gramme par litre, voire même de 360 ng/L pour E2-diS en entrée d'installation. Il faudrait noter que les bases de données de chaque figure ne sont pas les mêmes. De plus, comme on a déjà fait remarquer, la majorité des recherches effectuées ne comparent pas directement les concentrations à l'entrée et à la sortie des STEP. Ces différences sont la cause de quelques discordances dans les figures (voir les concentrations et l'élimination de E2-diS présentée par Komori et al., 2003).

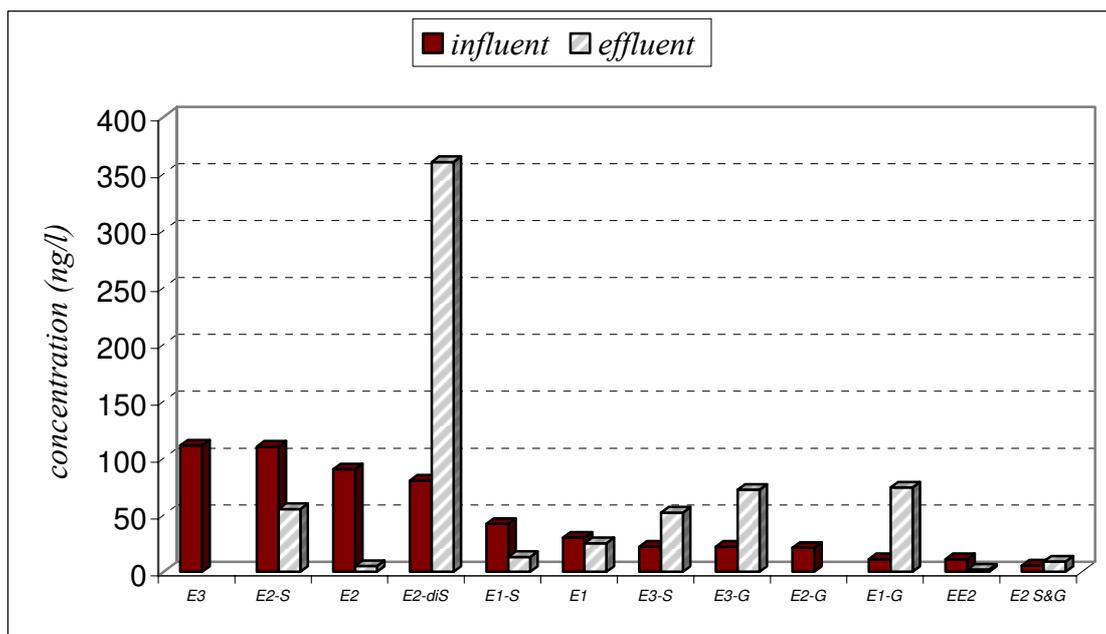


Figure 1.24 : Différentes concentrations en hormones observées au niveau des STEP

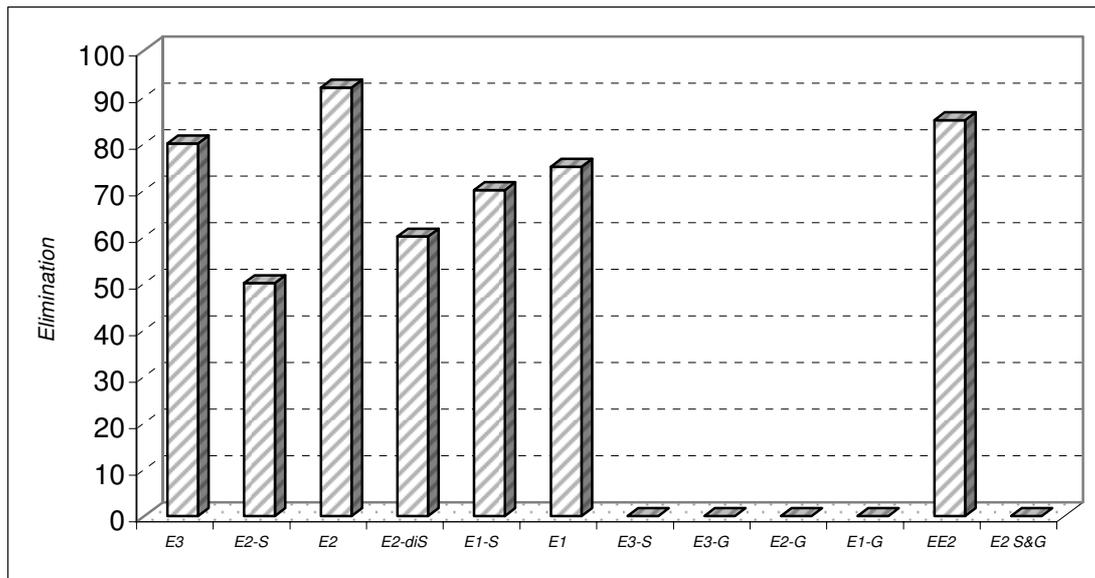


Figure 1.25 : Élimination observée de certaines hormones en STEP

Globalement on constate que certains composés sont bien voire très bien éliminés, comme par exemple : E2 (99 %), EE2 (85 %), E3 (80 %) et E1 (75 %). Cependant d'autres composés ne le sont pas : E1-G, E2-G, E3-G.

1.4.4 Présence des antibiotiques dans les STEP

A partir des données présentées dans le tableau 1.15, on a préparé les figures 1.26 et 1.27 qui rassemblent les concentrations dans l'effluent et l'élimination observée de quelques antibiotiques. Il faut ajouter que pour l'érythromycine, on a considéré les données que l'on a déjà mentionnées dans la partie 1.3.5.

Les concentrations maximales observées sont les suivantes : pour le sulfaméthoxazole (1,5 µg/l), pour la tétracycline (1,3 µg/l) et pour l'érythromycine (1 µg/l). Les pourcentages maximaux d'élimination sont obtenus pour : la tétracycline (95 %), la clarithromycine (80 %), le chloramphénicol (80 %). Il faut noter cependant que de nombreux antibiotiques ne sont pas éliminés : le meropenem, le céfotiam, le nitrothiazol. De plus les quinolones et fluoroquinolones (qui forment une large classe d'antibiotiques comportant l'acide nalidixique, la ciprofloxacine et la sparfloxacine) sont indiqués comme étant « peu biodégradables ».

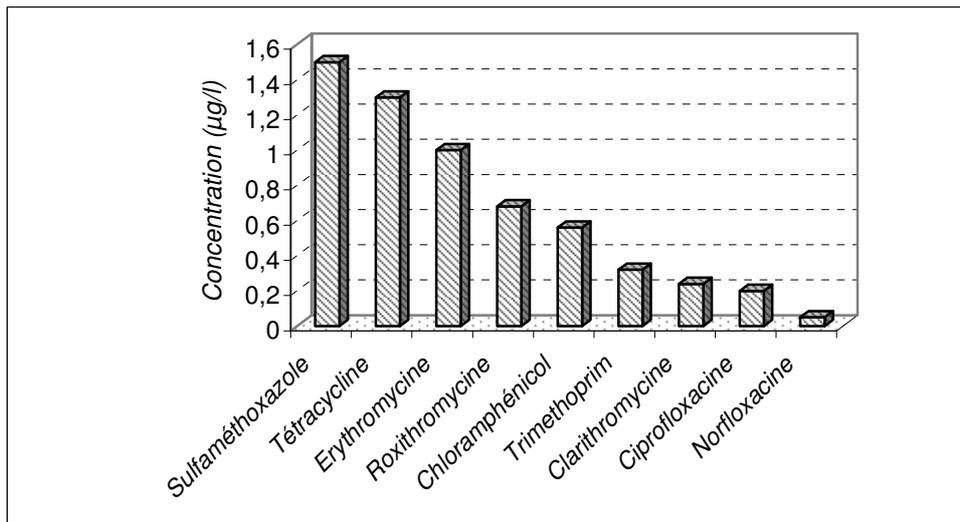


Figure 1.26 : Concentrations observées pour certains antibiotiques dans des effluents de STEP

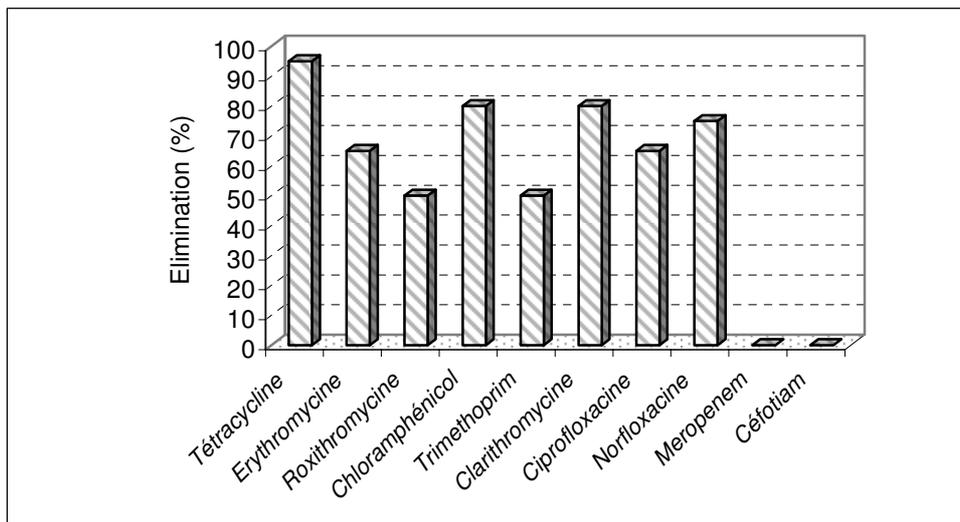


Figure 1.27 : Élimination observée de certains antibiotiques dans les STEP

1.4.5 Consommation d'érythromycine

Le tableau 1.18 présente la consommation d'érythromycine pour quelques pays. En se basant sur la population de chaque pays, on l'a représenté sur la figure 1.28 (la consommation d'érythromycine estimée par an et par personne). Il faut ajouter que la différence considérable entre le Royaume-Uni et l'Angleterre vient des articles référencés (cf. tableau 1.18).

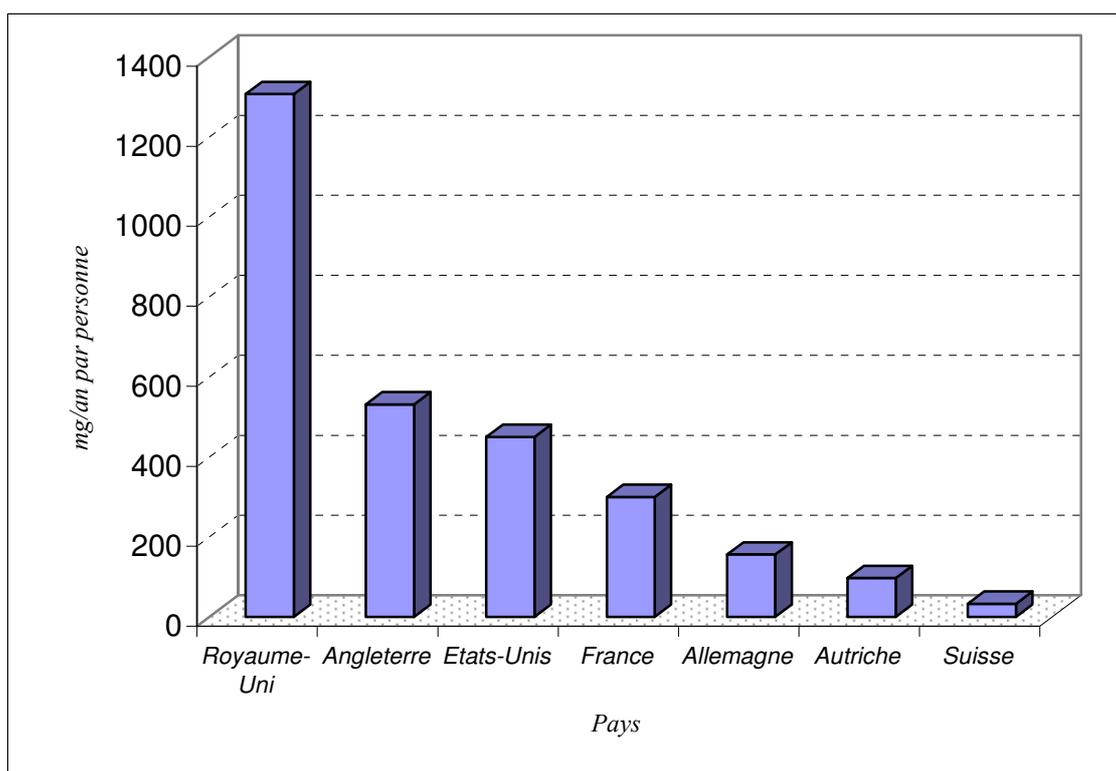


Figure 1.28 : Consommation estimée d'érythromycine dans certains pays

On trouve que la consommation d'érythromycine varie très largement entre 1307 mg/an par personne au Royaume-Uni et 33 mg/an par personne en Suisse. En France cette estimation donne un chiffre de près de 300 mg/an par personne.

La consommation d'érythromycine en Allemagne est inférieure à celle de la pénicilline V, de l'amoxicilline et de la sulfaméthoxazole (Hirsch et al., 1999). Cependant la concentration d'érythromycine dans les STEP (maximum 6 µg/l) et dans six rivières (maximum 1,7 µg/l) d'Allemagne est plus grande que celle des autres antibiotiques. Egalement, aux Etats-Unis, la concentration maximale d'érythromycine (1,7 µg/l) occupe la deuxième position dans le classement après le sulfaméthoxazole dans les 139 rivières étudiées par Kolpin et al. (2002).

1.4.6 Procédés de traitement des eaux usées et élimination des composés médicaux

En fait, on n'a pas trouvé beaucoup de travaux sur la relation entre les procédés de traitement de l'eau usée et le devenir des composés pharmaceutiques. Cependant on peut noter quelques règles pour chaque catégorie.

Parmi les traitements classiques, les boues activées donnent le meilleur taux d'élimination de l'activité d'estrogène (Coors et al., 2003). Cependant des techniques plus récentes, comme la filtration sur membrane ou le traitement sur charbon actif, permettent d'améliorer encore les résultats (Kloepfer et al., 2003).

Plusieurs facteurs sont importants pour l'efficacité de traitement comme : le temps de résidence hydraulique (HRT), l'état des floes, le type d'écoulement à l'intérieur de l'installation, le temps moyen de transport de l'eau usée depuis les égouts jusqu'aux STEP, l'activité et la stabilité de bactéries (Johnson et al., 2004). Dans les systèmes classiques de traitement, les facteurs les plus importants pour l'élimination des perturbateurs endocriniens sont l'âge des boues et l'établissement de phases alternées d'oxygénation (aérobie, anoxie et anaérobie) (Bursch et al., 2003).

Ces résultats ont été confirmés pour l'élimination d'autres médicaments dans les STEP (Stuer-Lauridsen et al., 2004 ; Kanda et al., 2003). En conséquence, les conditions de traitement comme le temps de pluie, la température, le type d'aération, le type de traitement tertiaire et l'infiltration modifient beaucoup l'efficacité du traitement (Ternes et al., 1998, Ternes, 2000).

Le projet européen (POSEIDON) a examiné le devenir de certains composés pharmaceutiques dans les procédés de traitement des eaux urbaines. Selon les participants à ce projet (Ternes et al., 2004), les principaux mécanismes d'élimination des composés médicaux dans les STEP sont :

- La dégradation biologique : le facteur le plus important est l'âge des boues.
- La sorption sur la boue : le facteur principal est le coefficient de distribution de la sorption (K_d). D'après la littérature (Jones et al., 2005) la valeur de K_d dépend du coefficient de partage octanol-eau (K_{ow}) et du coefficient de partage avec le carbone organique (K_{oc}).
- Le stripping : ce mécanisme est efficace seulement sur les composés volatils.
- L'oxydation chimique : en général, l'utilisation d'ozone est une option recommandée pour l'élimination d'un grand nombre de composés pharmaceutiques.

Le tableau 1.19 montre une présentation semi quantitative d'élimination de quelques médicaments dans les procédés de traitement des eaux usées.

Ternes et al., (2004) ont bien confirmé que l'élimination de chaque composé pharmaceutique dans une STEP correspond à des caractéristiques particulières de chaque STEP.

Classe thérapeutique	Anti-infl.		Hypoli.	Hormone			Antibiotique		Anticonvul.		AOI	
	Ibu	Dicl	Clof	E1	E2	EE2	SMX	ROX	Car	Diaz	Iopr.	Iopam
Substance	Ibu	Dicl	Clof	E1	E2	EE2	SMX	ROX	Car	Diaz	Iopr.	Iopam
Traitement primaire	<10	<10	<10	10-50	10-50	10-50	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Elimination de la DCO (âge des boues ≤ 2J)	50-90	<10	<10	<10	10-50	<10	>90	10-50	<10	<10	<10	<10
Nitrification (âge des boues entre 10 et 15 J)	>90	10-50	<10	>90	>90	>90	>90	10-50	<10	<10	50-90	<10
Stabilisation des boues (âge des boues ≥ 25 J)	>90	10-50	<10	>90	>90	>90	50-90	50-90	<10	<10	50-90	<10
Filtration sur membrane (âge des boues ≥ 25 J)	>90	10-50	<10	>90	>90	>90	pd	50-90	<10	pd	50-90	<10
Bio-filtre	pd	10-50	<10	>90	>90	50-90	pd	10-50	<10	pd	50-90	<10
Sol (zone non saturée)	>90	>90	<10	>90	>90	>90	<10		<10	pd	50-90	<10
Eaux souterraines (zone saturée)	50-90	50-90	pd	>90	>90	pd	pd	50-90	<10	10-50	pd	pd
Traitement anaérobie des boues	10-50	10-50	<10				>90	>90	10-50	10-50	10-50	pd
Utilisation d'ozone	10-90	>90		>90	>90	>90	>90	>90	>90	10-50	10-50	10-50

Abréviations :

Anti-infl : Anti-inflammatoire, Hypoli. : Hypolipidémiant, Anticonvul. : Anticonvulsivant, Ibu : Ibuprofène, Dicl : Diclofénac, Clof : Acide clofibrique, E1 : Estrone, E2 : 17 β -Estradiol, EE2 : 17 α -Ethinylestradiol, SMX : Sulfaméthoxazole, Rox : Roxithromycine, Car : Carbamazépine, Diaz : Diazépam, Iopr : Iopromide, Iopam : Iopamidol, pd : pas d'information

Tableau 1.19 : Présentation semi quantitative de l'élimination (en pourcent) de certains médicaments dans les procédés de traitement des eaux usées (d'après Ternes et al., 2004)

1.5 Conclusion

Comme on a pu le voir lors de l'examen de la bibliographie disponible sur le sujet, de nombreux travaux montrent la présence de composés pharmaceutiques dans les environnements aquatiques y compris dans l'eau potable (Heberer, 2002 ; Kümmerer, 2001). Les principales sources de dispersion de ces composés sont les stations d'épuration des eaux usées (STEP).

Malgré les recherches déjà effectuées (Jones et al., 2005 ; Ternes et al., 2004), il manque de nombreuses informations concernant les médicaments dans les eaux usées. Dans la majorité des cas, peu de composés ont été étudiés en comparaison avec le nombre très important de produits susceptibles d'être rejetés. De plus, les données sont très diverses et il est difficile de trouver des relations entre elles. En général, le processus d'élimination des composés médicaux (adsorption, biodégradation ou évaporation) et l'effet de ces substances sur le procédé de traitement n'est pas pris en compte.

L'analyse de la base de données que nous avons constituée montre que la quantité de composés pharmaceutiques dans les STEP est directement liée à la quantité de médicaments vendue ou consommée que sont les analgésiques (comme le paracétamol), les anti-inflammatoires (comme l'acide acétylsalicylique) et les antibiotiques (par exemple la pénicilline).

Parmi les composés pharmaceutiques on s'est particulièrement intéressé aux antibiotiques car :

1. Ils sont consommés en grande quantité.
2. Ils sont détectés dans les effluents de STEP, les eaux de surface et les eaux souterraines en faible concentration.
3. Ils ont une action spécifique sur les micro-organismes (pouvoir destructeur à concentration thérapeutique) et un potentiel d'action important sur les procédés de traitement biologique des eaux usées qui mettent en œuvre des bactéries.

Les rendements d'élimination des antibiotiques sont très variables, de 95% (par exemple pour la tétracycline) à 0% (par exemple pour le nitrothiazole).

Les antibiotiques de type macrolide sont un sous-groupe important d'antibiotiques qui ont été détectés dans plusieurs STEP même après traitement tertiaire. Ils sont consommés en grande quantité en médecine humaine et vétérinaire. Isidori et al., (2005) montrent que la toxicité chronique (MEC/PNEC) d'antibiotiques de type macrolide ou ayant des propriétés semblables (dont l'érythromycine, la lincomycine et la clarithromycine) atteint la valeur de 1 et que cette classe d'antibiotique est la plus toxique pour l'environnement.

Pour étudier l'effet potentiel de ce type d'antibiotique sur le procédé de traitement des eaux usées, il a été décidé d'approfondir la question en étudiant spécifiquement l'influence de deux antibiotiques de type macrolides (l'érythromycine et la tylosine), sur les boues activées. Le premier est utilisé en médecine humaine et le second en médecine vétérinaire. Une modification de la nitrification est attendue, car les bactéries nitrifiantes sont réputées plus sensibles aux toxiques que les bactéries hétérotrophes. Pour cette raison nous serons particulièrement attentifs au devenir des composés azotés au cours des expériences. Cependant un effet global n'étant pas impossible, l'ensemble de la biomasse sera surveillée.

CHAPITRE 2

Matériels et Méthodes

Ce chapitre est divisé en quatre parties. Dans la première partie (2.1) on présente des informations sur les deux principales stations d'épuration étudiées (Nancy-Maxéville et Pont-à-Mousson), les appareillages de laboratoire et les substances utilisées au cours des expérimentations.

La deuxième partie (2.2) traite des méthodes analytiques et des appareils de mesure qui ont été mis en œuvre pour permettre la détection des composés dans les échantillons prélevés (spectrophotométrie d'absorption UV-Visible, spectrofluorimétrie, chromatographie liquide à haute performance ou HPLC, etc.)

On explique les préparations microscopiques et les systèmes d'acquisition des images dans la troisième partie (2.3).

Enfin la quatrième et dernière partie (2.4) est consacrée à l'analyse d'image utilisée pour étudier la morphologie des boues activées. Le lecteur trouvera également les étapes de fonctionnement de chaque programme (Flocs_sec et Gram_frag) ainsi que les différents paramètres calculés.

2.1 Présentation des sites de prélèvements et des appareils pilotes

2.1.1 Station d'épuration de Nancy-Maxéville

La filière urbaine de la station d'épuration de Nancy-Maxéville (figure 2.1) a été mise en service depuis 1971. D'une capacité de 350 000 équivalent habitant EH (source : Agence de l'Eau Rhin-Meuse), elle reçoit les effluents des vingt communes composant la CUGN (Communauté Urbaine du Grand Nancy) ce qui correspond à environ à 100 000 m³/j. Elle assure également le traitement des effluents industriels produits par des brasseries situées à Champigneulle (capacité 30 000 m³/j) à quelques kilomètres au nord de celle-ci.

L'objectif fixé par l'ensemble des stations d'épuration de France en 2005 est d'obtenir un taux de dépollution de 65 %. Afin de respecter la loi sur l'eau du 3 janvier 1992 et la directive européenne de 1991, la station a dû subir d'importantes modifications. En 1999, des travaux d'extension destinés au traitement de l'azote (Biolith®) et du phosphore ont débuté, et se sont terminés en 2004 pour le traitement au phosphore.

Les effluents urbains sont relevés par trois vis d'Archimède et dégrillés. Ils sont ensuite dirigés vers un système où sont combinés les fonctions dessablage, déshuilage et décantation lamellaire. Les boues issues de cette première décantation sont dirigées vers les digesteurs et l'eau décantée vers les zones d'anoxie amont. A ce stade une prédénitrification et une dégradation de la pollution carbonée sont réalisées (environ 35 % de l'effluent décanté est envoyé vers la zone d'anoxie amont mixte et 65 % vers la zone anoxie amont urbaine).

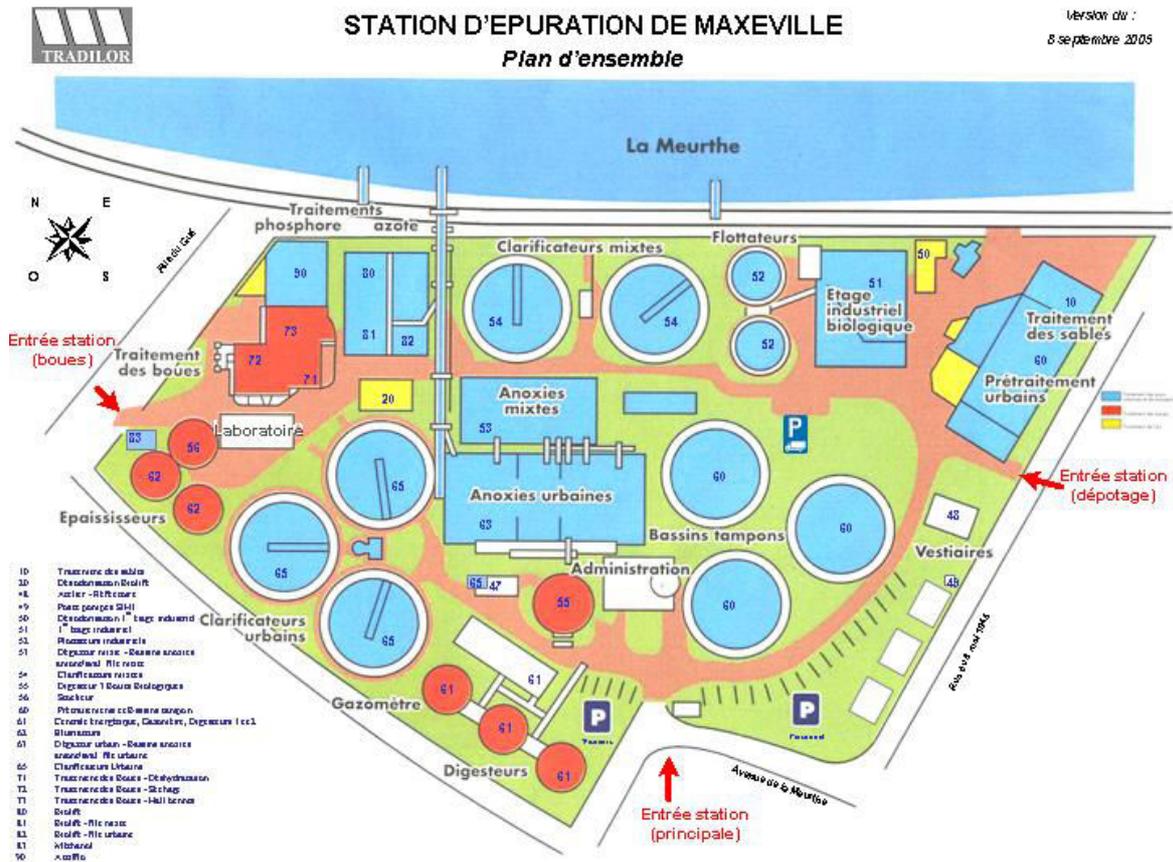


Figure 2.1 : Plan de la station d'épuration de Nancy-Maxéville

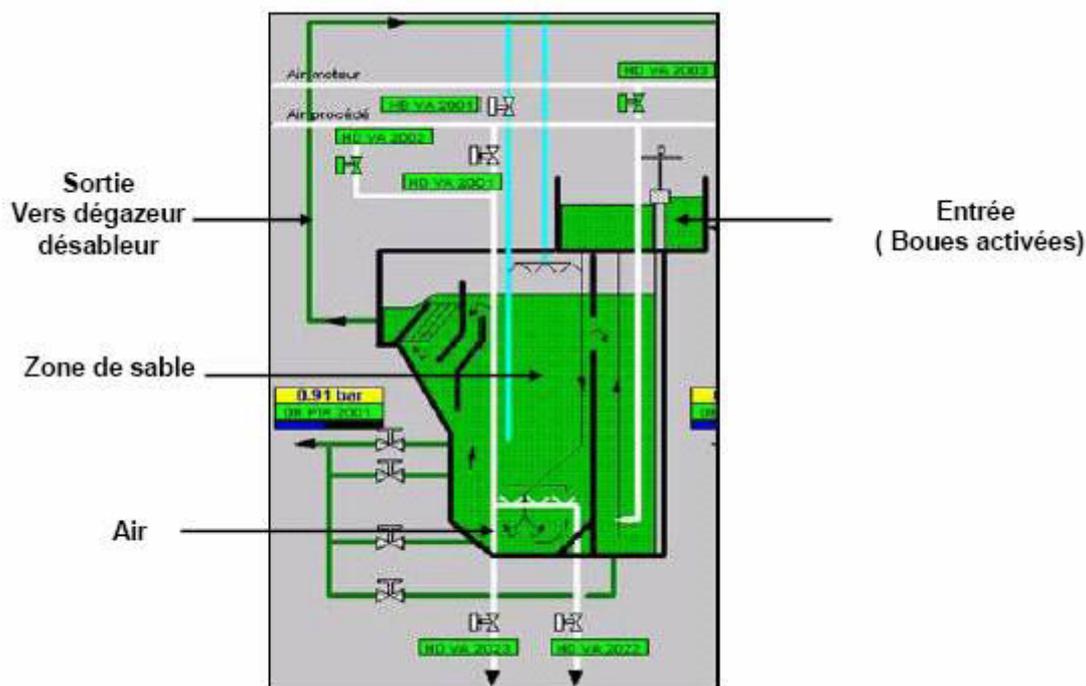


Figure 2.2 : Détail d'une cellule du Biolift®

L'effluent est ensuite introduit dans le Biolift®. C'est un réacteur biologique à culture fixée sur lit de microsable fluidisé (figure 2.2). Il est composé de 14 cellules pour la filière mixte et 18 cellules pour la filière urbaine. La surface spécifique de fixation des microorganismes est considérable puisqu'elle représente environ 900 à 1800 m²/m³ de réacteur. L'injection d'air par des oxytubes va permettre la nitrification.

Après la passage dans le Biolift®, l'effluent est dirigé vers le dégazeur (suppression des mousses formées dans le Biolift® avec un pont racler)/ dessableur (récupération des microsables et retour vers le Biolift®). Il est ensuite envoyé vers les bassins d'anoxie aval, puis dirigé vers les clarificateurs où une partie des boues sera recyclée et l'excès sera envoyé vers les flottateurs industriels. A la sortie des clarificateurs un traitement physico-chimique permettant d'éliminer des phosphates est réalisé sur l'eau épurée avant que celle-ci ne soit rejetée à la Meurthe. Le tableau 2.1 présente les principales caractéristiques ponctuelles des eaux usées de Nancy-Maxéville (source : station d'épuration).

Paramètres moyenne journalières	Débit : 100 000 m³/j
DCO	260 mg/L – 26 t/j
DBO ₅	120 mg/L – 12 t/j
MES	150 mg/L – 15 t/j
NTK	30 mg/L – 3 t/j
Ptotal	10 mg/L – 1 t/j

Tableau 2.1 : Principales caractéristiques des eaux usées urbaines de Nancy

2.1.2 Station d'épuration de Pont-à-Mousson

La station d'épuration du Syndicat Intercommunal d'Assainissement de l'agglomération de Pont-à-Mousson est située chemin de la Grande Corvée sur la rive droite de la Moselle. Cette station a une capacité de 16 200 EH (Source : Agence de l'eau Rhin-Meuse).

Un poste de relèvement se trouve à l'entrée de la station. Les eaux sont reprises vers un caniveau de mesure par quatre pompes immergées dont une de secours (débit 360 m³/h). Ce poste est équipé d'un panier de dégrillage grossier. Après relèvement, l'effluent à traiter transite par un canal de mesure de débit équipé d'un Venturi rehaussé (largeur de canal 80 cm, hauteur 90 cm, niveau de l'eau au débit maximal 64 cm).

Le traitement primaire est constitué de deux dégrillages successifs (grossier et fin) suivis des unités de dessablage et de déhuilage. L'eau usée est ensuite dirigée vers le traitement biologique. Il est composé par une zone de biosorption ou zone de contact dont le but est d'améliorer la décantation des boues, et par un bassin d'aération dans lequel une déphosphatation est réalisée par ajout de FeCl₃.

La nitrification et dénitrification se font en alternance par séquençage de l'aération. La cellule d'aération (volume de 3500 m³) fonctionne par dissociation de l'aération du brassage. L'effluent est transporté jusqu'au dégazeur où il subit une désaération indispensable avant décantation. La séparation des boues et de l'eau épurée est réalisée par deux clarificateurs de volume 2868 m³ et l'effluent épuré est envoyé dans la Moselle. Les boues sont dirigées vers un silo préconcentrateur puis déshydratées par centrifugation. Le tableau 2.2 présente les principales caractéristiques ponctuelles des eaux usées de Pont-à-Mousson (source : station d'épuration).

2.1.3 Appareillages de laboratoire

Plusieurs réacteurs aérés et parfaitement agités sont utilisés pour réaliser les expériences en laboratoire (figure 2.3). Chaque réacteur est constitué d'un cône et d'un cylindre qui le surplombe. Le volume maximal du réacteur est de 4 litres. L'ensemble des manipulations a été réalisé avec des volumes d'un litre de boues activées et deux litres d'eau usée.

L'aération est réalisée à l'aide d'un disque poreux disposé au fond du cône. L'apport d'oxygène est assuré par l'air comprimé. Cette aération permet également d'assurer le brassage.

Des prélèvements réguliers ont été effectués dans les réacteurs avec une seringue. Après filtration des échantillons, ils sont conservés à 4 °C (maximum 72 heures). On a utilisé les échantillons filtrés pour toutes les analyses.

Paramètres moyenne journalières (temps sec)	Débit : 5495 m³/j
DCO	320 mg/L – 1758 kg/j
DBO ₅	160 mg/L – 879 kg/j
MES	240 mg/L – 1319 kg/j
NTK	9.6 mg/L – 220 kg/j

Tableau 2.2 : Principales caractéristique des eaux usées de Pont-à-Mousson



Figure 2.3 : Installation des réacteurs au laboratoire

2.1.4 Substances utilisées

Des expériences ont été réalisées dans les réacteurs discontinus aérés en présence de diverses concentrations d'érythromycine et de tylosine ajoutée à de l'eau usée. Le tableau 2.3 présente les principales caractéristiques des antibiotiques utilisés. Les structures chimiques de ces produits sont présentées dans le chapitre 1.3.5.

2.1.5 Prélèvement et stockage des échantillons

L'eau usée a été prélevée après dégrillage à Pont-à-Mousson et après le décanteur primaire à Nancy. Les boues proviennent de circuit de recyclage en avant des clarificateurs. On a fait le prélèvement juste avant la manipulation.

L'ensemble des échantillons prélevés dans les réacteurs sont filtrés avant d'effectuer les analyses. La filtration de l'échantillon s'est faite à l'aide de papiers filtres en cellulose (diamètre des pores environ 7 μm).

Nom du produit	Erythromycine	Tylosin TARTRATE
<i>Fournisseur</i>	SIGMA [®]	SIGMA [®]
<i>Origine</i>	Italie	Chine
<i>Numéro de référence</i>	E-6376	T-6134
<i>Formule moléculaire</i>	$\text{C}_{37}\text{H}_{67}\text{NO}_{13}$	$\text{C}_{46}\text{H}_{77}\text{NO}_{17} \cdot \text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$
<i>Poids moléculaire</i>	733.93	1066.19
<i>Numéro CAS¹</i>	114-07-8	74610-55-2
<i>Teneur</i>	999 $\mu\text{g}/\text{mg}$	912 $\mu\text{g}/\text{mg}$

Tableau 2.3 : Les principales caractéristiques des antibiotiques utilisés

¹ Chemical Abstracts Service

2.2 Analyses physico-chimiques

2.2.1 Matières sèches (MS)

Pour obtenir la concentration en matière sèche, on a placé 25 mL d'échantillon dans une coupelle et on a laissé sécher pendant 24 heures dans un four à 105 °C. Cette matière sèche correspond à l'ensemble des matières en suspension et matières solubles. On a fait cette analyse pour les boues prélevées, au départ et à la fin de la manipulation.

La concentration, s'exprime par : $MS \text{ (g/l)} = \frac{P2 - P1}{0,025}$

Avec P1 le poids de la coupelle propre (en g) et P2 le poids de la coupelle après séchage (en g).

2.2.2 Matières volatiles (MV)

La détermination des Matières Volatiles selon la norme NF T90-029 se fait à partir de la MS. L'échantillon issu du dosage de MS est placé dans un four à 550 °C pendant deux heures. Puis, on le pèse (P3 en g) et par différence on obtient les matières volatiles, exprimées en mg/L :

$MV \text{ (g/L)} = \frac{P2 - P3}{0,025}$

On peut considérer, sans grande erreur, que les MV représentent les matières organiques et que la différence entre MS et MV représente les matières minérales.

2.2.3 Détermination de la dose de coagulant/floculant (Jar Test)

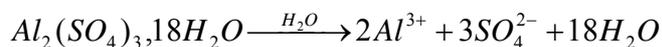
La coagulation suivie de la floculation sont des étapes importantes du traitement des eaux usées pour l'élimination des particules colloïdales, et parfois l'élimination du phosphore. Le but recherché ici est de modifier la structure des floes.

Coagulants utilisés

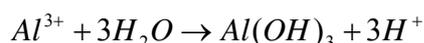
Sels d'aluminium

Le plus utilisé est le sulfate d'aluminium :

- Présentation commerciale : poudre blanche à 18 molécules d'eau : $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$.
- Réactions au contact de l'eau :



puis



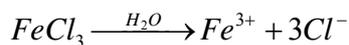
Cette réaction est optimale à pH compris entre 6 et 7,5 (prédominance de la forme $Al(OH)_3$).

- Dose utilisée en traitement des eaux usées : 100 à 300 g/m³ en $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$.
- Risques et sécurité : Il est classé parmi les produits irritants (Xi)

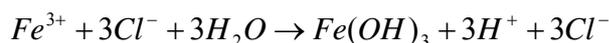
Sels de fer

Le plus utilisé est le chlorure ferrique :

- Présentation commerciale : liquide brun correspondant à une solution à 594,5 g/L en $FeCl_3$.
- La solution commerciale est présentée comme étant une solution de densité = 1,45 à 41 % de pureté en chlorure ferrique.
- Réaction au contact de l'eau :



puis



Cette réaction est optimale à pH compris entre 5 et 9 (prédominance de la forme $Fe(OH)_3$).

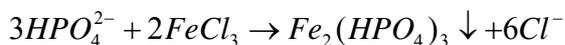
- Doses utilisée en traitement des eaux usées : 50 à 250 g/m³ en $FeCl_3$.
- Risques et sécurité : il est classé parmi les produits nocifs (Xn).

Élimination du phosphore

Le phosphore soluble des orthophosphates et des polyphosphates est éliminé par précipitation avec le coagulant. Le phosphore particulaire sera éliminé lors de l'étape de décantation avec les autres matières en suspension.

Réactions :

A pH neutre, la forme hydrogénophosphate prédomine :



Dans la pratique on constate que la dose réelle de chlorure ferrique ne correspond pas à la stœchiométrie de la réaction mais qu'il faut un excès de réactif. La dose optimale sera donc déterminée au laboratoire grâce au jar-test, test que nous décrirons plus loin.

Autres coagulants synthétiques

On a utilisé trois autres coagulants synthétiques. L'un d'eux est utilisé à la STEP de Nancy-Maxéville (PRAESTOL[®] 611). Le tableau 2.4 montre les paramètres principaux des coagulants utilisés dans cette analyse.

Nom du produit	MAGNAFLOC [®] 338	ZETAG [®] 7635	PRAESTOL [®] 611 BC
Identification chimique	Copolymère acrylamide anionique	Copolymère acrylamide cationique	Copolymère cationique
Numéro CAS	-	000124-04-9	75150-29-7
Producteur/fournisseur	CIBA [®] SPECIALITES CHIMIQUES SA	CIBA [®] SPECIALITES CHIMIQUES SA	Degussa

Tableau 2.4 : Les coagulants synthétiques utilisés

L'étude des étapes de coagulation-floculation se fait dans une installation appelée Jar-test (figure 2.4), permettant la sélection du meilleur jeu de conditions opératoires en vue de l'étape de décantation. La quantité de coagulant, la quantité de floculant, la vitesse d'agitation, le temps d'agitation sont autant de paramètres à optimiser.

On a réalisé ce test avec les étapes suivantes :

- introduction de quantités croissantes de coagulant dans des béchers (6) contenant un litre d'eau usée et munie d'une hélice d'agitation,
- agitation rapide (150 rpm) pendant 3 minutes : phase de coagulation,
- agitation lente (40 rpm) pendant 17 minutes : phase de floculation,
- arrêt de l'agitation et attente de 25 minutes : phase de décantation,
- analyse des différents paramètres du floc (par analyse d'image),
- on choisit le bécher qui présente les meilleurs rendements. La dose optimale de coagulant, appelée taux de traitement, correspond à la quantité de coagulant injecté pour un litre d'eau usée. Le taux de traitement s'exprime en mg de coagulant/L d'eau usée (ou en g/m³).



Figure 2.4 : Installation de l'analyse Jar Test

2.2.4 Spectrophotométrie d'absorbance UV-Visible

La spectrophotométrie UV-Visible a été utilisée pour détecter les nitrites, les nitrates et la DCO soluble. Les spectres ont été obtenus dans une gamme de 200 à 600 nm (pas de 1 nm) avec un spectrophotomètre SECOMAN Anthélie Light[®] (figure 2.5). Une cellule en quartz de 10 mm a été employée. Ses parois ont été soigneusement nettoyées avant chaque mesure. Deux sources de lumières sont utilisées : une lampe visible tungstène halogène et une lampe UV au deutérium. La vitesse de balayage a été fixée à 1200 nm/min. Le blanc a été réalisé avec de l'eau déminéralisée et avec la même cellule de mesure. Les spectres ont été obtenus sans dilution.

2.2.4.1 Spectre UV-Visible et nitrification

La Figure 2.6 présente un exemple de courbe obtenue de spectrophotométrie UV-Visible d'un prélèvement dans le réacteur témoin en fin d'expérience et une courbe d'eau usée brute.



Figure 2.5 : UV-Visible spectrophotomètre SECOMAN Anthélie Light[®] relié à un PC

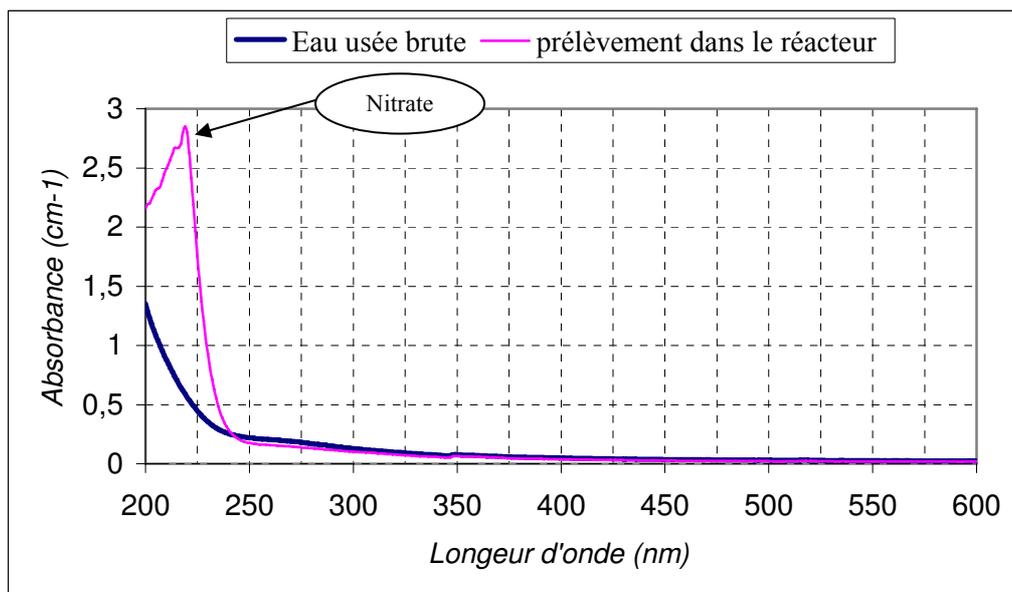


Figure 2.6 : Exemple de spectres d'absorption UV-Visible

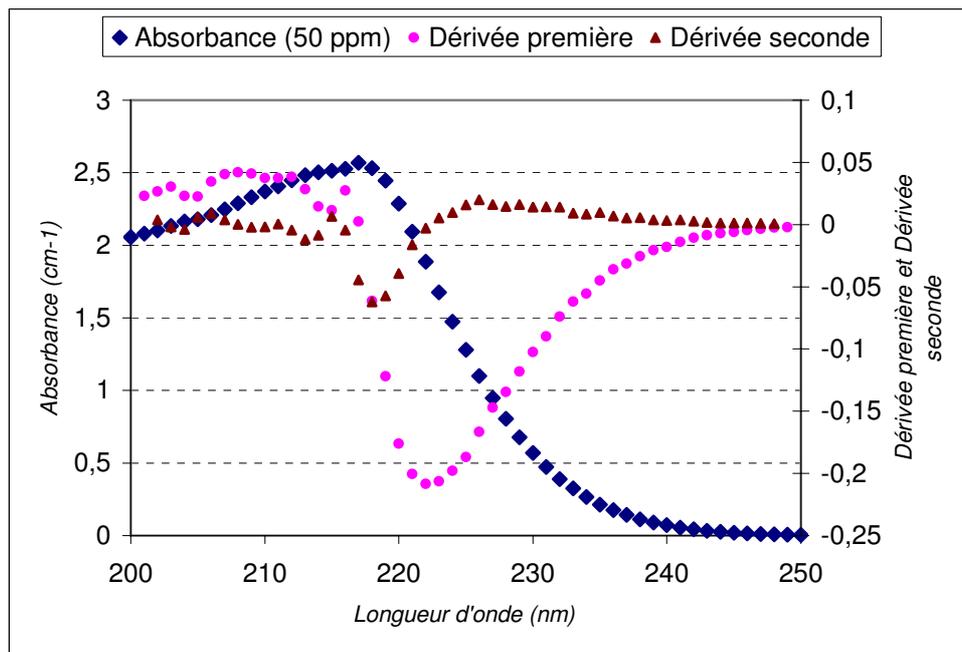


Figure 2.7 : Exemple de spectre de nitrates accompagné des courbes de la dérivée première et de la dérivée seconde

Plusieurs travaux montrent la corrélation forte entre l'absorbance de la lumière ultraviolette à une longueur d'onde de 254 nm et la DCO soluble (Mrkva, 1983) et l'absorbance à ~220 nm et la concentration de nitrate (Ferrée et Shannon, 2001).

Ferrée et Shannon (2001) ont établi que la dérivée seconde d'un spectre de nitrate présente un pic à environ 224 nm. La figure 2.7 représente un exemple du spectre de nitrates d'absorption UV-Visible accompagné de courbes de la dérivée première et de la dérivée seconde.

La hauteur du pic à environ à 224 nm sur la courbe de la dérivée seconde peut permettre d'accéder à la concentration en nitrate. La figure 2.8 montre la corrélation entre la dérivée seconde des spectres UV-Visible et la concentration des nitrates.

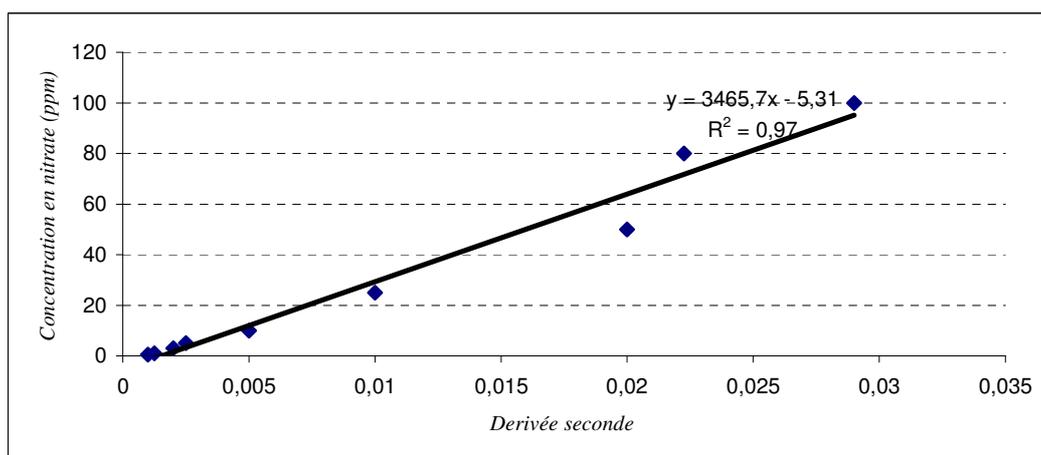


Figure 2.8 : Droite d'étalonnage entre la dérivée seconde des spectres UV-Visible et la concentration de nitrate

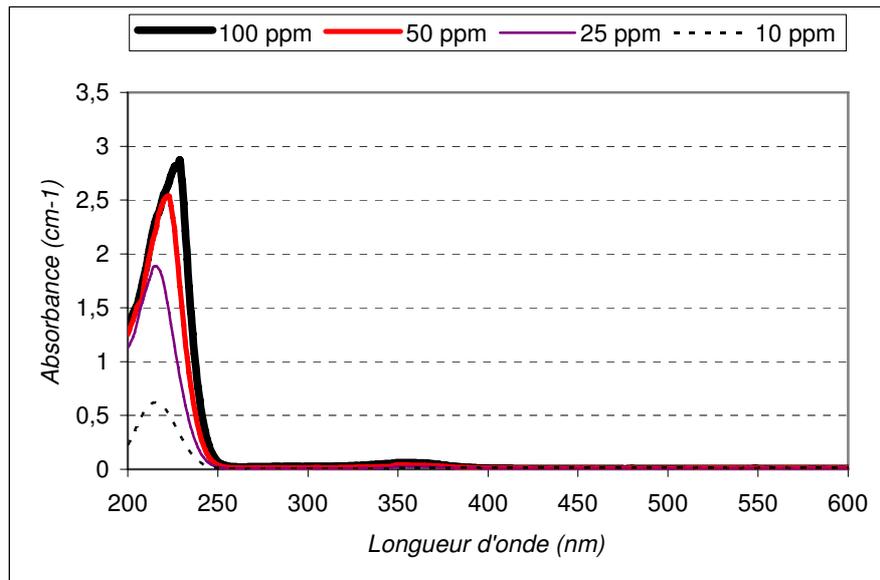


Figure 2.9 : Spectres d'absorption UV-Visible pour les différentes concentrations en nitrites

Comme on peut le voir dans la figure 2.6, on observe un pic à environ 210 nm sur les spectres UV-Visible. On peut supposer qu'il correspond à la présence de nitrites dans le réacteur. C'est la raison pour laquelle on a cherché une corrélation entre l'absorbance à 210 nm et la concentration de nitrites. La figure 2.9 représente quelques courbes UV-Visibles obtenues pour différents échantillons de nitrite.

On peut observer que la longueur d'onde correspondant au pic n'est pas stable et qu'elle change par rapport à la concentration en nitrites.

La hauteur du pic du spectre d'absorption UV-Visible quand la dérivée première s'annule nous permet de connaître le maximum d'absorbance. On a montré dans la figure 2.10 la corrélation entre ce pic et les concentrations de nitrites.

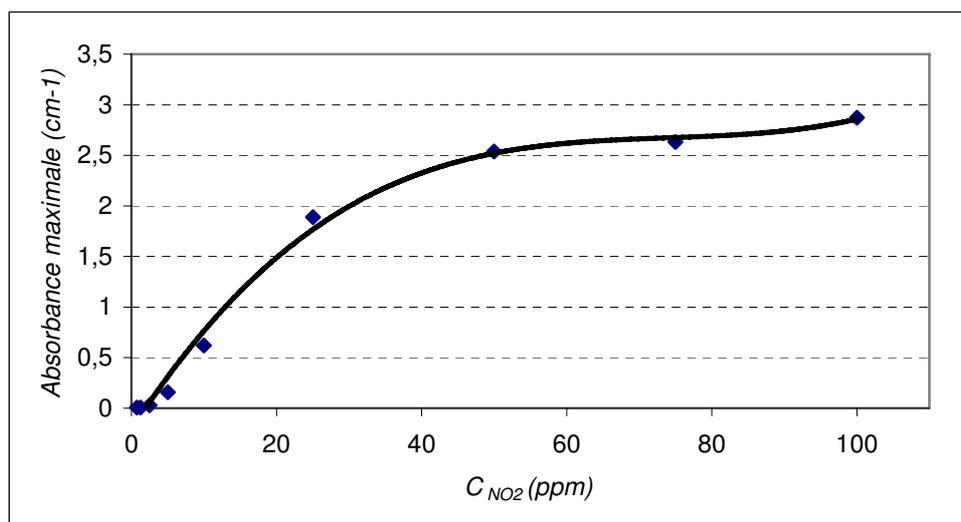


Figure 2.10 : Corrélation entre les concentrations en nitrites et l'absorbance maximale du spectre UV-Visible

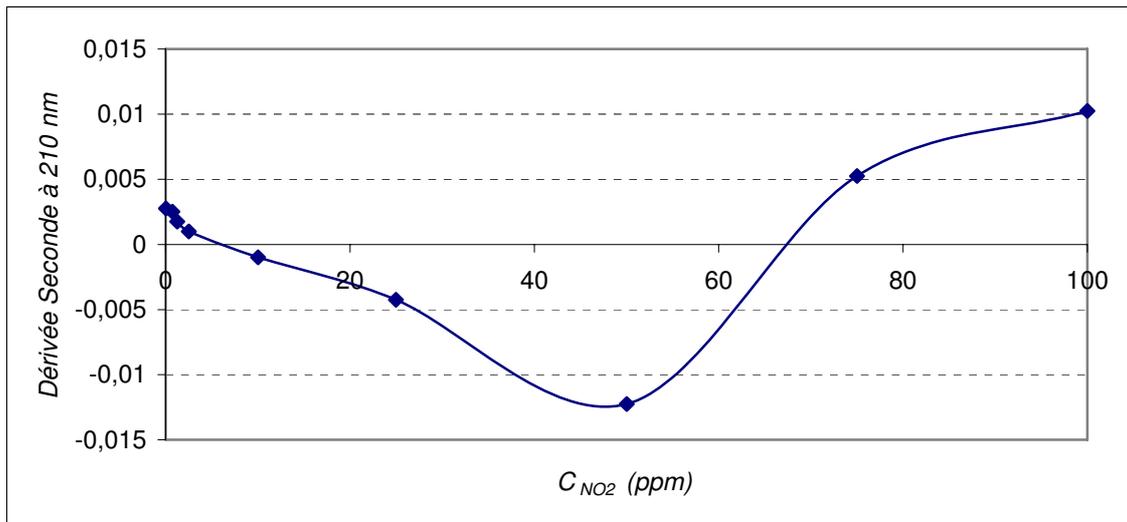


Figure 2.11 : Corrélation entre la dérivée seconde et la concentration en nitrites

On a également cherché une corrélation entre la dérivée seconde à ~ 210 nm et la concentration de nitrite (représenté à la Figure 2.11). Ce graphe montre que il n'y a pas une relation remarquable entre la dérivée seconde (calculée à l'absorbance ~ 210 nm) et la concentration en nitrites.

2.2.4.2 Spectre UV-Visible et concentration de la tylosine dans l'eau distillée

On a préparé des échantillons dont les concentrations varient de 5 mg/l à 1000 mg/l de tylosine avec de l'eau distillée. Après l'analyse des échantillons avec le spectre UV-Visible, on a observé une saturation du signal pour les concentrations supérieures à 100 mg/l. La figure 2.12 montre les courbes des échantillons inférieurs à 100 mg/l.

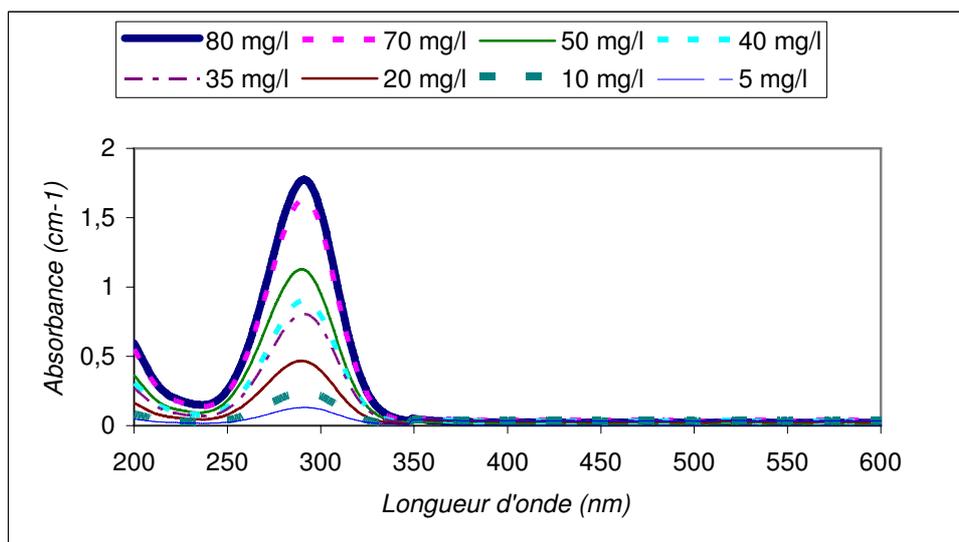


Figure 2.12 : Spectres d'analyse UV-Visible avec différentes concentrations de tylosine

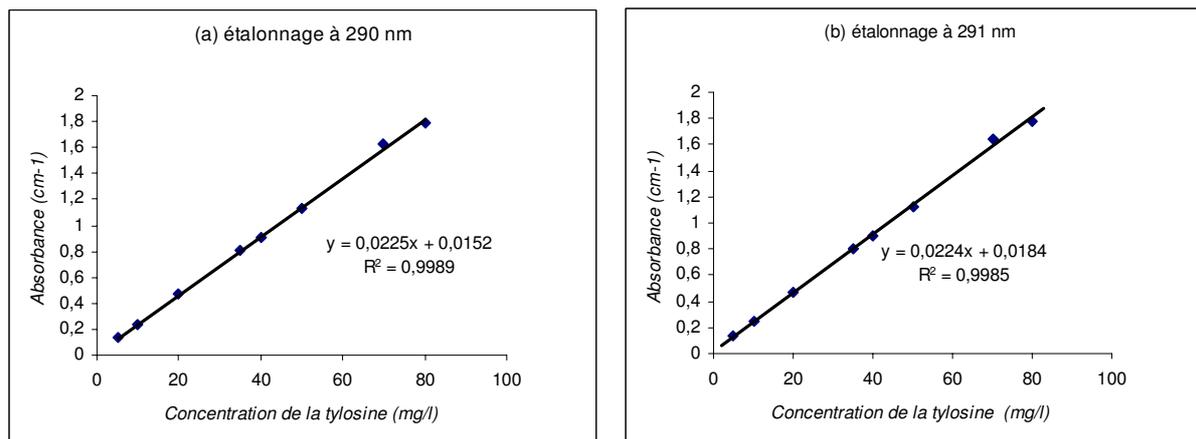
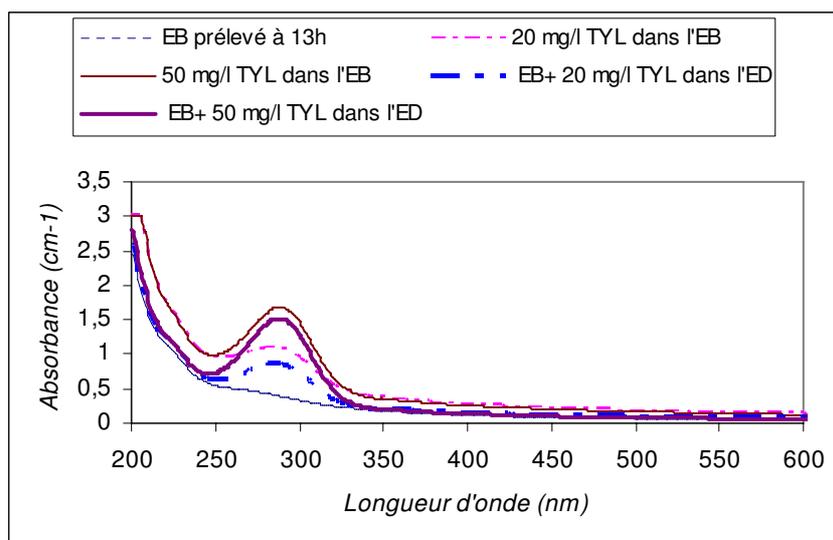


Figure 2.13 : Droite d'étalonnages pour des absorbances UV-Visible et la concentration de la tylosine dans l'eau distillée

Toutes les courbes obtenues ont un maximum vers 290 nm. On a étalonné la courbe de tendance pour les absorbances à 290 et 291 nm et puis on a calculé le coefficient de détermination « R^2 » pour les courbes. La figure 2.13 présente la courbe d'étalonnage à 290 et 291 nm.

2.2.4.3 Spectre UV Visible d'eau usée en présence de tylosine

On a prélevé plusieurs échantillons d'eaux usées à différentes heures. Ensuite on a ajouté 20 mg/l et 50 mg/l de tylosine dans chaque échantillon et on a déterminé les spectres UV-Visible. La figure 2.14 représente les courbes pour l'échantillon prélevé à 13 heures. On observe toujours un pic vers 290 nm. L'absorbance à 290 nm pourrait être utilisée pour détecter la tylosine dans les eaux usées. Cependant une forte interférence avec la DCO soluble (absorbance à 254 nm) viendrait perturber cette mesure comme on peut le voir en comparant les figures 2.12 et 2.14.



Note : EB = Eau brute prélevée à STEP ; ED = Eau Distillée

Figure 2.14 : Spectres UV-Visible pour un prélèvement en présence de tylosine

2.2.5 Spectrofluorimétrie

La présence de résidus protéiniques de type tryptophane est suivie par fluorescence synchrone. La détection a été effectuée avec un spectrophotomètre de fluorescence (F-2500; Digilab, Hitachi[®]) (figure 2.15), avec une lampe du xénon (Xe), en utilisant le logiciel de « FL Solutions 2.0 ». La longueur d'onde de l'émission ($\lambda_{ém}$) varie de 280 nm à 650 nm et la décalage entre la longueur d'onde de l'émission et la longueur d'onde de l'excitation (λ_{ex}) était 50 nm ($\lambda_{ém} - \lambda_{ex} = 50\text{nm}$).

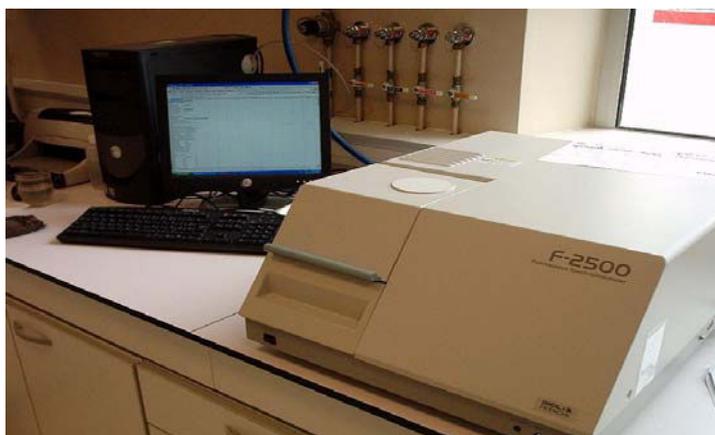


Figure 2.15 : Spectrophotomètre de fluorescence Hitachi[®] (F-2500; Digilab) relié à un PC

La Figure 2.16 représente un exemple de spectre de fluorescence d'un échantillon prélevé sur une manipulation. Il y a deux bandes observables : vers l'excitation 285 nm et vers 325 nm. La bande (excitation ; émission) à (284 ; 334) correspond à des substances azotées organiques de type tryptophane (Baker, 2002). Le tryptophane est un acide aminé polaire, hydrophobe et très fragile. La seconde bande correspond à un ensemble de substances en particulier des acides humiques et fulviques.

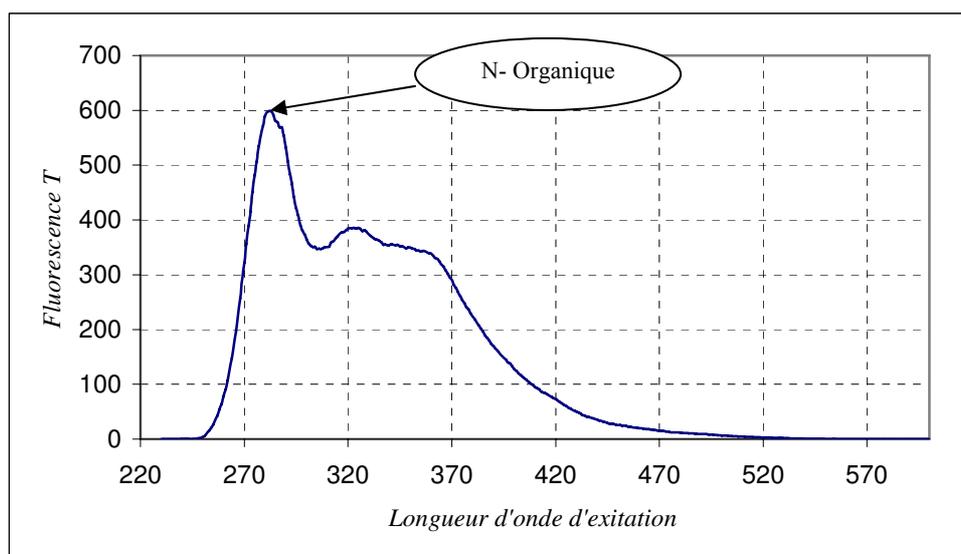


Figure 2.16 : Exemple de spectre de fluorescence d'échantillon prélevé sur réacteur témoin



Figure 2.17 : Spectro-photocolorimètre Hach® DR/2400

2.2.6 Spectro-photocolorimétrie

On a mesuré les ions ammonium, les nitrites et les nitrates avec un spectro-photocolorimètre Hach® DR/2400 (figure 2.17). La gamme de longueur d'onde de cet appareil s'étend de 400 à 800 nm (± 1 nm). La sélection de la longueur d'onde peut s'effectuer manuellement en mode signal unique ou être automatique en mode programme. La lecture des résultats peut s'effectuer en mode transmission, absorption ou concentration.

2.2.6.1 Azote ammoniacal

La méthode Hach® n° 380 sur une gamme de 0 à 2,5 mg/L basée sur le réactif de Nessler a été adaptée pour des prises d'échantillon de 10 mL. Les échantillons (filtrés) ont été dilués au 20^{ème} à l'aide d'un diluteur automatique Hamilton® et avec de l'eau déminéralisée. Le réactif de Nessler (iodo-mercure de potassium alcalin) est décomposé en présence d'ions ammonium avec formation d'iodure de dimercuriammonium produisant une couleur jaune. Sa concentration est mesurée par absorbance à 425 nm.

La figure 2.18 présente la courbe d'étalonnage réalisée avec une solution de chlorure d'ammonium. Les résultats sont toujours exprimés en mg/L d'azote N. L'erreur de dosage est évaluée à $\pm 0,5$ mg N-NH₄/l.

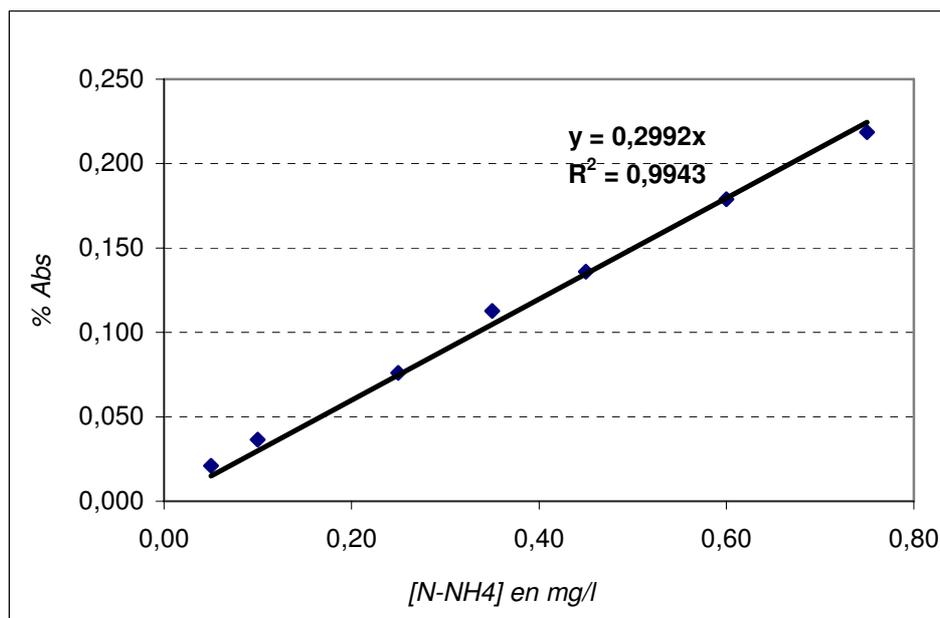


Figure 2.18 : Droite d'étalonnage pour la mesure de l'azote ammoniacal

2.2.6.2 Nitrite

On a utilisé le méthode n° 371 Hach® pour la mesure des nitrites base de gamme (0,002 à 0,300 mg/L NO₂⁻-N). Les échantillons ont été dilués au 10^{ème} (et parfois au 20^{ème}) comme précédemment. Les nitrites dans l'échantillon réagissent avec l'acide sulfanilique pour former un sel intermédiaire de diazonium. Celui-ci se couple avec de l'acide chromotrope pour produire un complexe de couleur rose, qui représente proportionnellement la concentration en nitrite. Les mesures sont faites à 507 nm. L'erreur de dosage est estimée à ± 0,02 ou 0,04 mg N-NO₂/l en fonction de la dilution.

2.2.6.3 Nitrate

Le méthode de la réduction au cadmium (méthode n° 355 Hach®) a été appliqué pour la gamme 0,3 à 30,0 mg/L NO₃⁻-N (gamme haute). Le cadmium réduit les nitrates dans l'échantillon en nitrite. L'ion nitrite réagit en milieu acide avec de l'acide sulfanilique pour former un sel intermédiaire de diazonium. Le sel réagit avec l'acide gentisique pour former une solution colorée ambre. L'absorbance est mesurée à 500 nm. L'erreur de mesure est estimée à ± 1 mg N-NO₃/l.

2.2.7 Chromatographie ionique

L'analyse par chromatographie ionique a été réalisée à l'aide d'un appareil DIONEX® (figure 2.19) en utilisant le logiciel de « AI-450 Version 3.31 ». Il s'agit d'une HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance) appliquée aux ions. Cette technique est d'une grande sensibilité. Les ions ou composés polaires sont entraînés par la phase mobile et séparés par effet de leurs interactions avec les sites ioniques de la phase stationnaire. Plus la densité de charge d'un soluté est grande, plus il est retenu par la phase stationnaire et plus il met de temps pour la traverser. La détection est basée sur la mesure en continu de la conductivité de la phase mobile en sortie de colonne. De plus, le temps de rétention (ou temps de d'élution) est caractéristique de chaque espèce ionique.



Figure 2.19 : HPLC DIONEX® relié à un PC

L'éluant utilisé (phase mobile) est une solution Na_2CO_3 (10 mM) et NaHCO_3 (7 mM). L'appareil est étalonné avec une solution comprenant 50 et 100 mg/l de NO_2^- et NO_3^- . Un millilitre est ensuite injecté à l'aide d'une seringue équipée d'un filtre de 0,45 μm . L'appareil calcule alors les concentrations en nitrite et nitrate.

La figure 2.20 représente un exemple du graphe obtenu par la chromatographie ionique (HPLC). Comme on peut le voir, il a trois pics notables qui apparaissent à environ 4,6 min, 8,00 min et 11,25 min par rapport au début de l'analyse. Ils correspondent au chlorure, au nitrate et au phosphate respectivement. On s'aperçoit que le pic correspondant au nitrite interfère avec le pic du chlorure. Le temps d'éluion du nitrite ($\sim 4,84$ min) est très proche de celui du chlorure ($\sim 4,75$ min). La concentration en chlorure est forte dans les eaux usées et les nitrites sont masqués.

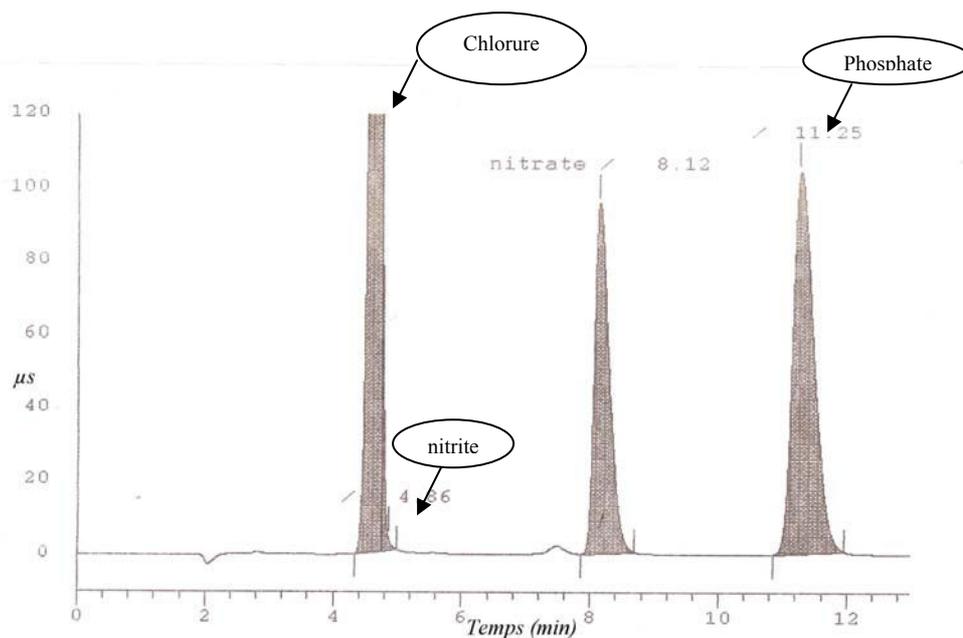
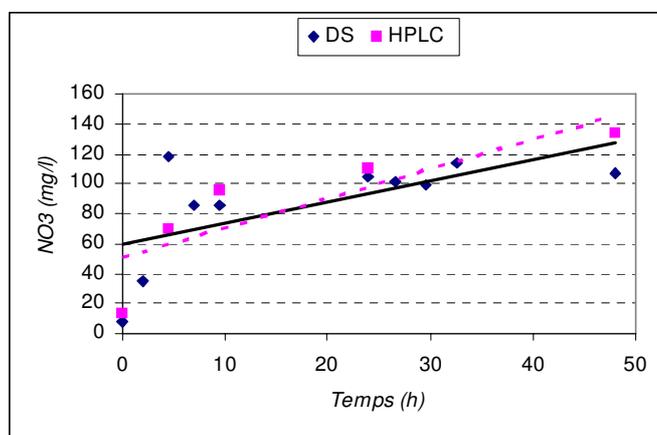
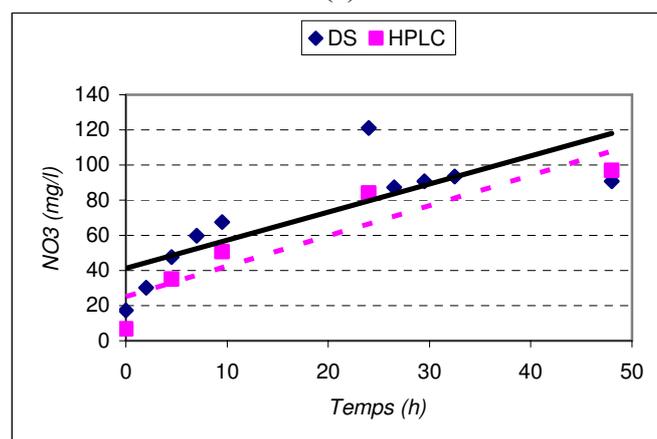


Figure 2.20 : Exemple de spectre HPLC (échantillon d'un réacteur témoin)

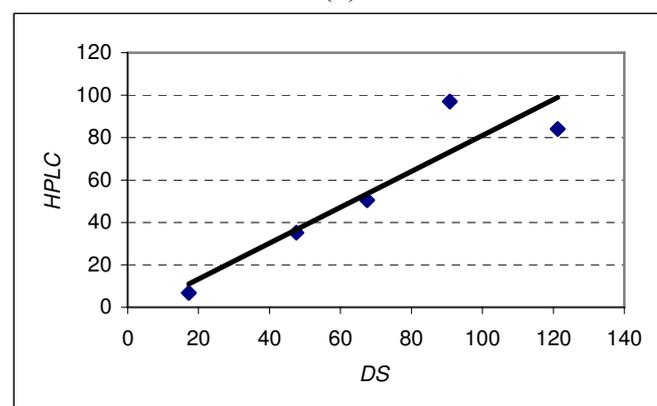
Les figures 2.21 (a) à (c) comparent les concentrations en nitrates mesurées par la dérivée seconde des spectres UV-Visible et par l'HPLC. On s'aperçoit que l'absorbance à A_{220} est un bon indicateur pour la concentration de nitrate. Ceci confirme les résultats des courbes d'étalonnage que l'on a montrées précédemment (figure 2.8). En utilisant ce résultat, on a utilisé directement les courbes UV-Visible pour suivre la concentration de nitrate dans les manipulations (cf. chapitre 3).



(a)



(b)



(c)

Figures 2.21 : Comparaison entre la dérivée seconde et l'HPLC pour le réacteur témoin (a), le réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine (b) et la corrélation entre les deux méthodes pour le réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine (c)

2.3 Préparations microscopiques et systèmes d'acquisition des images

2.3.1 Préparations microscopiques

On a utilisé trois types de préparations microscopiques : « état frais », « état sec » et la coloration de « Gram ».

2.3.1.1 Préparation "état frais"

L'état frais permet de déterminer les différents paramètres morphologiques des floccs et des microorganismes filamenteux (figure 2.22). On a utilisé cette méthode pour regarder, examiner et vérifier la situation -en global- de la boue activée instantanément.

100 μL de boues sont placées sur une lame en verre et recouvert par une lamelle. On observe au grandissement γ de 100 X.

2.3.1.2 Préparation "état sec"

La préparation « état sec » permet une meilleure focalisation et elle est utilisée pour déterminer différents paramètres morphologiques des bactéries filamenteuses et des floccs : la surface totale, la surface de floccs, le nombre de floccs, le nombre de filaments, la longueur de filaments et la longueur du squelette. On peut calculer la surface moyenne de flocc en utilisant la proportion « surface de floccs/nombre de floccs ».

Pour préparer cet état, sur chaque lame, on étale 100 μL de boues et on fixe à la chaleur douce. On observe à un agrandissement γ de 100 X (objectif 10 X). La fixation à la chaleur douce permet de figer la situation. Elle tue les microorganismes sans modifier leurs aspects morphologiques.

La figure 2.23 montre un exemple d'une image de bactéries filamenteuses et floccs qui a été préparées par cette méthode.

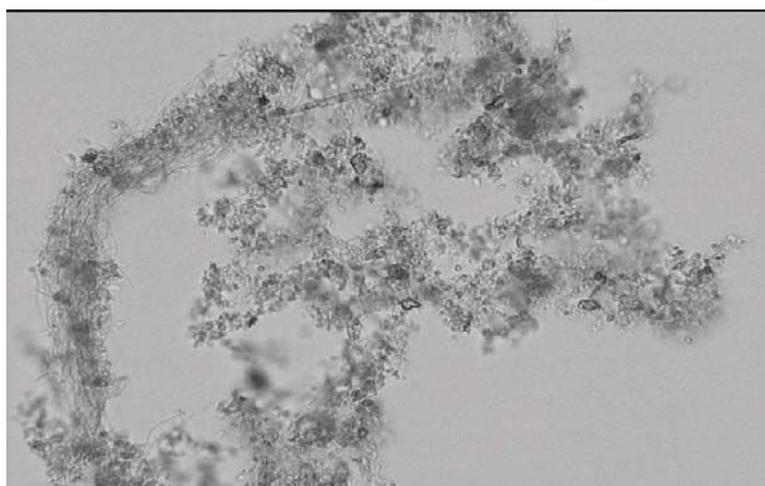


Figure 2.22 : Image d'un flocc préparé par état frais, $\gamma = 100 \text{ X}$

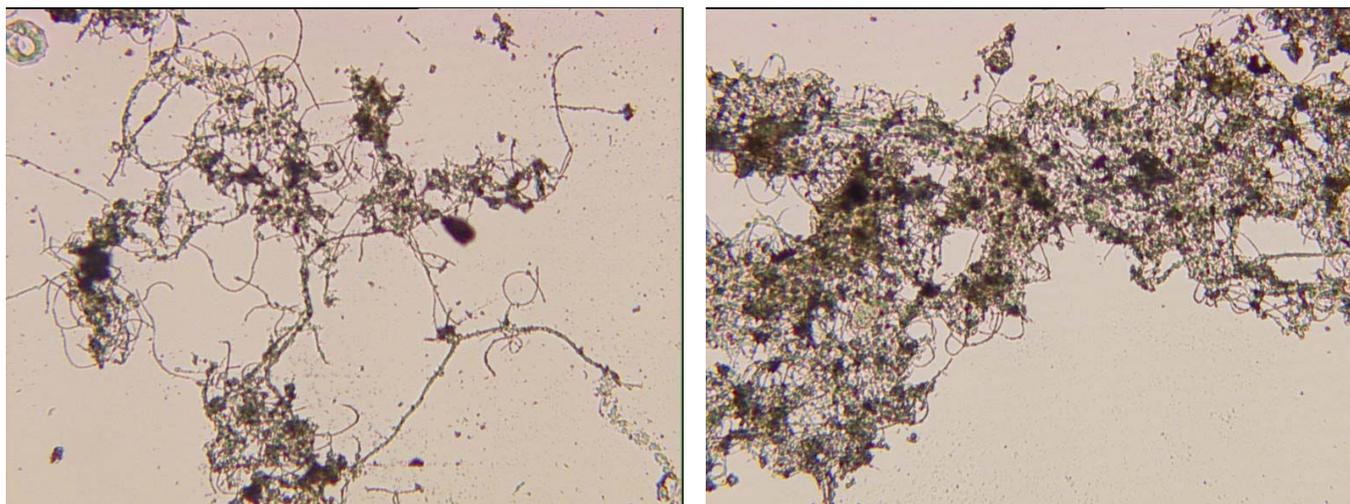


Figure 2.23 : Image de bactéries filamenteuses et de floccs préparés par état sec, $\gamma = 100 X$

2.3.1.3 Préparation avec la coloration de Gram

La coloration de Gram est une technique qui aide à l'identification des espèces de bactéries. Les bactéries dites Gram positives (G^+) possèdent une paroi cellulaire formée par une couche épaisse de peptoglycane, tandis que pour les bactéries Gram négatives (G^-) cette couche est moins épaisse et recouverte d'une membrane externe. Le cristal violet traverse les parois de toutes les bactéries et colore en violet leur cytoplasme. Après mordantage par du Lugol, les bactéries sont décolorées, plus rapidement pour les Gram négatives que pour les Gram positives. Après la deuxième coloration par la safranine les bactéries Gram négatives deviennent roses.

L'utilisation de la coloration de Gram requiert une certaine pratique. Les réactifs doivent être frais (3 – 6 mois), et si possible, doivent être testés avec des cultures pures de bactéries dont on connaît les caractéristiques Gram. Les gros floccs denses qui ne sont pas complètement décolorés sont ignorés dans le traitement des images (Jenkins et al. , 1993).

Les différentes manipulations avec la coloration de Gram ont été réalisées avec un KIT GRAM- HÜCKER RAL[®]. Ce kit contient les trois solutions suivantes :

Solution N° 1 :

Violet de cristal	2g
Ethanol à 95%	10 mL
Oxalate d'ammonium	0,8 g
Eau déminéralisée	80 mL

Solution N° 2 :

Iodure de potassium	2 g
Iode	1 g
Eau déminéralisée	300 mL

Solution N° 3 :

Safranine O : (2,5 % dans éthanol à 95 %)	10 mL
Eau déminéralisée	100 mL

La procédure que l'on a utilisée est la suivante :

- Fixer 100 μ L de boue sur une lame à chaleur douce.

- Appliquer la solution N° 1 pendant une minute, rincer à l'eau distillée.
- Appliquer la solution N° 2 (30 secondes à une minute), rincer à l'eau distillée.
- Incliner légèrement la lame et décolorer partiellement avec de l'éthanol à 95% en faisant de la goutte pendant 20 secondes environ.
- Appliquer la solution N° 3 (10 secondes à une minute), rincer et sécher.

L'observation est réalisée à un grossissement γ de 250 X avec de l'huile à immersion. Un exemple de cette coloration est montré dans la figure 2.24.

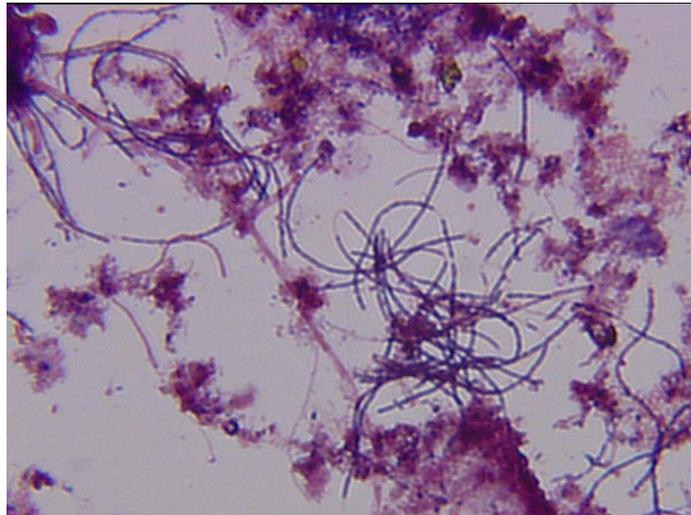


Figure 2.24 : Exemple de coloration Gram, $\gamma = 250$ X

2.3.2 Systèmes d'acquisition des images

2.3.2.1 Echantillons

Avant de réaliser l'acquisition des images, il faut préparer la lame correctement. Les lames doivent être propres pour ne pas causer de fausses informations pendant l'acquisition des flocs (les grains de poussière peuvent être interprétés comme des flocs). La taille de la lame utilisée est de 79×26 mm et celle de lamelle de 24×24 mm.

Nettoyage des lames utilisées avec l'éthanol et prélèvement d'un volume (100 μ L) étalé de manière uniforme permettent d'avoir une bonne représentativité et répétitivité des échantillons. Aussi le balayage de la lame de manière horizontale permet d'avoir un ensemble d'images représentatives. Pour obtenir un résultat statistiquement acceptable, on a pris une série de 50 images sur chaque lame. La qualité des images dépend du bon réglage par l'opérateur, du système de visualisation (propreté des objectifs) et de la qualité de préparation.

2.3.2.2 Microscope optique

Le système d'acquisition des images couleurs pour les échantillons est composé d'une caméra Sony® 3CCD EXAWAWEHAD, fixée à un microscope optique à contraste de phase Leitz Dialux 20 (Wetzlar, Germany) comportant cinq objectifs 2,5X, 10X, 25X, 40X, 100X, et un oculaire 10X. La carte d'acquisition Matrox (Toronto, Canada) permet de convertir l'image analogique en image numérique (figure 2.25).



Figure 2.25 : Systèmes d'acquisition des images

Pour l'acquisition des images de morphologie bactérienne (état sec et état frais) et Gram un grandissement total de 100X et 250X sont utilisés respectivement. Un ensemble de filtres (Leitz, Wetzlar, Germany, 513 467) permet l'utilisation du contraste de phase avec les objectifs 10X, 25X, 40X ou 100X (filtres 2 et 3).

Des séries de 50 images sont réalisées sur les lames. L'ensemble des acquisitions d'images (taille 768×576 pixel en 8 bit format tif) a été réalisé avec un régulateur de puissance lumineuse Leitz (0 à 15 volt) et d'intensité de couleur RVB Sony[®] RM c 950 avec une échelle comportant 11 graduations.

2.2 Analyse d'image

Les images ont été analysées à l'aide du logiciel Visilog 5.2 (Noesis, Les Ulis) à partir de routines écrites dans un langage semblable au langage C. Les résultats sont sauvegardés sous forme de fichiers texte qui peuvent être importés dans un tableur.

On a utilisé le programme « Flocc_sec » et « Gram_frag » pour l'analyse des échantillons « état sec » et « coloration Gram », respectivement. Dans le premier cas, initialement on a transformé des images couleurs en image monochrome.

2.4.1 Transformation des images couleurs en image monochrome

Les images acquises dans le système de représentation couleur Rouge-Vert-Bleu (RVB) sont d'abord transformées dans le système Teinte-Intensité-Saturation (TIS). Seule l'information contenue dans la Primitive Intensité (identique à une image monochrome) est ici conservée (figure 2.26).

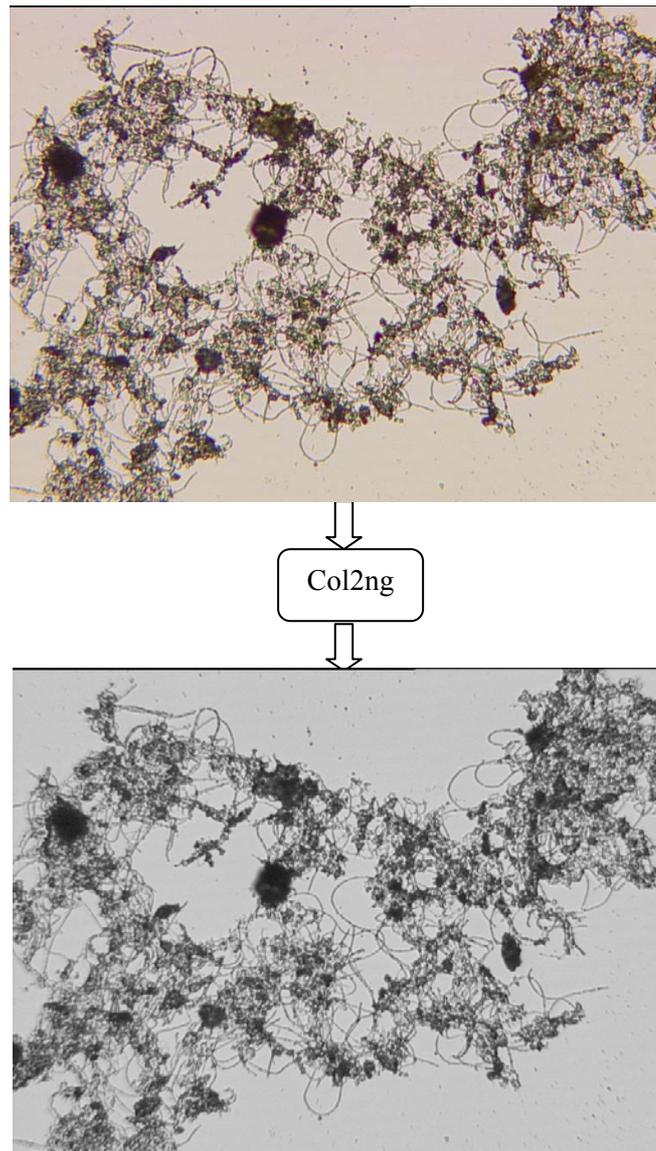


Figure 2.26 Transformation des images couleurs en image monochrome

2.4.2 Programme Flocc_sec

Le programme « Flocc_sec » a été adapté par M. N. Pons à partir du travail de Da Motta (2001) et Pandolfi (2006). Ce programme a été appliqué sur des séries de 50 images qui sont préparées par « état sec » (chapitre 2.3.1.2). Les principales étapes de ce programme sont représentées sur la figure 2.27. Il permet de nous renseigner sur la morphologie des bactéries filamenteuses et floccs.

Les images initiales sont tout d'abord transformées en images monochromes (→image **I.1**) suivant la procédure figure 2.27. Une égalisation globale de l'histogramme des niveaux de gris est réalisée afin d'augmenter le contraste de l'image (→image **I.2**).

Les images résultantes sont ensuite automatiquement segmentées (seuillage par entropie) afin d'obtenir une image binaire (→image **I.3**) qui permet de passer de 256 niveaux de gris à 2 (0 ou 1), et de visualiser le fond et les objets (filaments, floccs).

Sur l'image **I.3** on applique les opérations d'érosion, de soustraction pour éliminer les floccs de l'image (→image **I.4**).

Une discrimination selon la taille est effectuée. Celle-ci permet de distinguer les flocs d'une part image **I.5**, les petit débris et les filaments d'autre part image **I.6**. L'identification des filaments est basée sur la taille et le rayon de giration (r_g) de chaque élément.

$$r_g = \frac{\sqrt{M_{2X} + M_{2Y}}}{D_{eq} / 2}$$

M_{2X} et M_{2Y} sont les moments d'ordre 2 de l'élément considéré. Le diamètre équivalent des flocs (diamètre d'un disque de surface égale à la surface du floc) est déterminé par la relation suivante :

$$D_{eq} = 2\sqrt{\frac{S}{\pi}}$$

Où S étant la surface projetée des flocs.

Les éléments dont la surface est supérieure à 20 pixels et dont le rayon de giration est supérieur à 1,1 sont considérés comme filaments. Chaque filament est squelettisé, c'est-à-dire qu'il est réduit à un pixel d'épaisseur. Cette approche permet de dire que la longueur en pixel est égale à la surface totale occupée par le squelette.

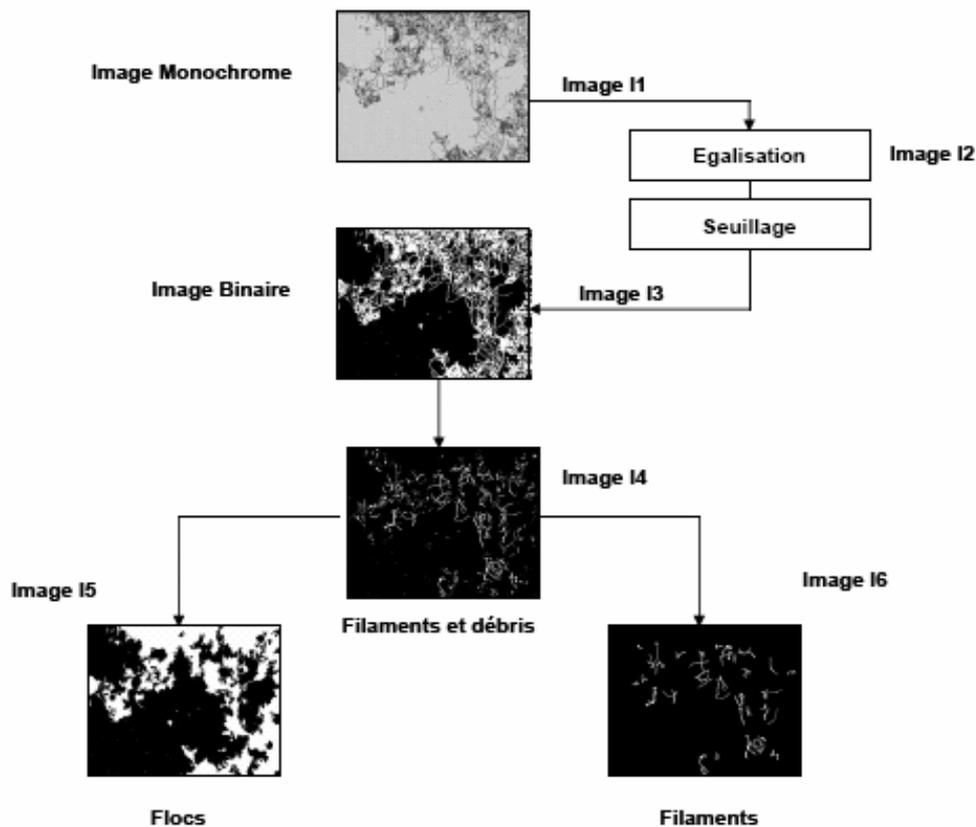


Figure 2.27 : Les étapes du programme « Flocs_sec »

En ce qui concerne la caractérisation morphologique le logiciel Visilog a calculé pour chaque image les paramètres suivants : la surface totale (Stot), la surface de flocs (Sflocs), le nombre de flocs (Nflocs), le nombre de filaments (Nfil), la surface occupée par les filaments (Lfil) et la longueur de squelette (Ls) en pixels. Après intervention d'un facteur de correction suivant de type objectif utilisé les valeurs sont exprimées en μm ou μm^2 .

2.4.3 Programme Gram_frag

Le programme « Gram » développé par Pandolfi (2006) a été appliqué sur des séries de 50 images qui sont préparées selon le protocole précédemment décrit (chapitre 2.3.1.3). Il permet d'établir les cinétiques de développement des bactéries filamenteuses à Gram⁺ (couleur violet foncé \approx bleu) et à Gram⁻ (couleur rouge-orangé).

La première étape consiste à transformer le système de représentation de l'image couleur RVB (Rouge-Vert-Bleu) en TIS (Teinte-Intensité-Saturation).

Seule la composante de saturation (S) est récupérée (image **I.3**, figure 2.28) et subit un égalisation des niveaux de gris (image **I.4**).

L'étape suivante consiste à réaliser un seuillage par entropie. Cette opération va permettre de transformer l'image en niveau de gris en une image binaire (image **I.5**). Les images et les flocs se voient affecter la valeur 1 alors que le fond de l'image la valeur 0. A ce stade l'image binaire comporte de nombreux débris et flocs dont il faut se débarrasser pour ne récupérer que les filaments ; à cet effet, on réalise des érosions linéaires suivies de reconstructions (image **I.7**).

L'élimination des flocs est réalisée par dilatation puis par soustraction logique de ceux-ci à l'image. Afin de ne garder sur l'image que les filaments désirés, on réalise une labellisation de l'image binaire pour les étiqueter. La discrimination entre les petits débris et les filaments sera réalisée à partir de la taille et du rayon de giration des objets (image **I.11**).

Les filaments sont ensuite squelettisés, c'est-à-dire réduit à une ligne d'une épaisseur de 1 pixel (image **I.12**).

Le squelette est ensuite nettoyé des petites branches inférieures à 5 pixels. Pour cela on isole les points terminaux du squelette. La fonction « point triple » permet d'isoler les points triples du squelette (points intersection). Les points triples sont dilatés puis soustrait du squelette initial. Enfin on reconstruit les branches du squelette à partir des points terminaux (images **I.13** et **I.14**).

La dernière étape consiste à comptabiliser les nombres de pixels rouges (R) et bleus (B) appartenant aux bactéries filamenteuses. Un pixel sera dit bleu lorsque sa composante bleu est plus élevée que sa composante rouge (B valeur \geq R valeur) et inversement pour un pixel rouge (B valeur $<$ R valeur). La méthode ne repose donc pas sur un seuil de couleur qu'il faudrait ajuster éventuellement pour chaque image.

Le programme Gram_frag crée trois types de fichiers :

Fichier bio : les résultats concernent la biomasse totale, flocs et filaments. La taille est relative à la surface occupée par la biomasse. On donne pour chaque image le nombre de pixels bleus et le nombre de pixels rouges en tenant compte de la différence entre le niveau rouge moyen et le niveau bleu moyen du fond (= f_dif).

Fichier total : les résultats concernent la biomasse filamenteuse. La taille est relative à la surface occupée par les filaments. On donne pour chaque fragment de filament le nombre de pixels bleus et le nombre de pixels rouge en tenant compte de f_dif.

Fichier frag : les résultats concernent la biomasse filamenteuse. La taille est relative à la surface occupée par les filaments après squelettisation (chaque filament a un diamètre de 1 pixel). On donne pour chaque fragment de filament le nombre de pixels bleus et le nombre de pixels rouge en tenant compte de f_dif.

Pour calculer la proportion de bleus contenus dans chaque fragment de filaments, on détermine la proportion P de pixel bleus. Si la proportion $P \geq 50\%$ le filament est considéré comme bleu (Gram⁺). Inversement si la proportion $P < 50\%$ le fragment est considéré comme rouge (Gram⁻).

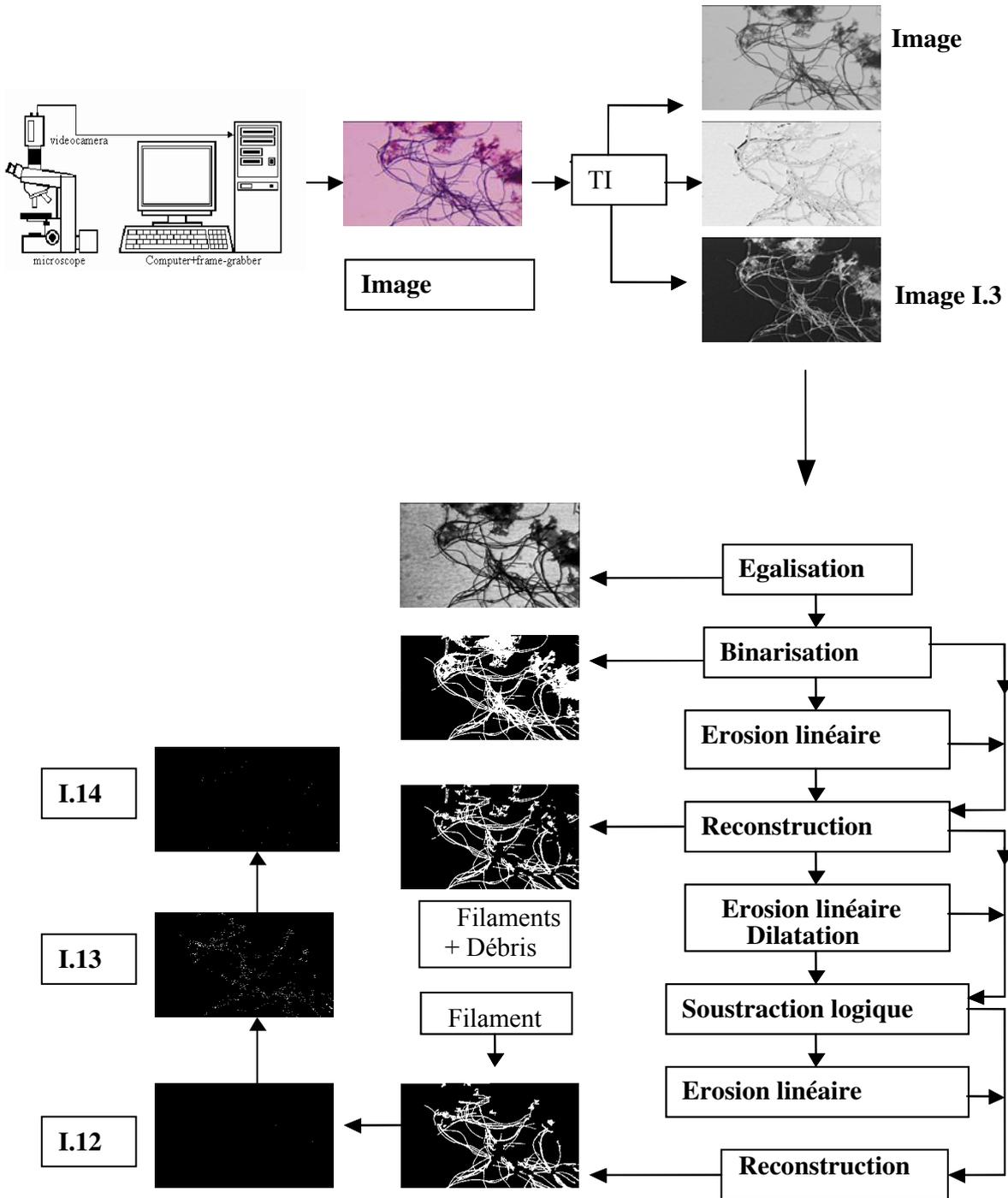


Figure 2.28 : Les étapes du programme « Gram_frag »

CHAPITRE 3

Résultats et discussion

Ce chapitre est divisé en cinq parties. La première (3.1) est consacrée à l'effet de l'érythromycine (biomasse, élimination de la pollution organique et azotée).

La deuxième partie (3.2) traite de l'effet de la tylosine (biomasse, élimination de la pollution azotée).

Dans la troisième partie (3.3) l'effet de l'activité initiale des boues activées utilisées est discutée et dans la quatrième partie (3.4) des essais de modification de la structure des floes ont été effectués afin d'essayer de protéger les bactéries de l'attaque de l'antibiotique.

Dans la cinquième et dernière partie (3.5) une synthèse des différents résultats est proposée avec une analyse du mode d'attaque des deux antibiotiques étudiés sur les bactéries des boues activées.

3.1 Effet de l'érythromycine

Dans cette première étape, nous allons analyser les cinétiques des différentes variables en fonction de la teneur en érythromycine. Les doses utilisées peuvent paraître élevées par rapport aux concentrations trouvées dans l'environnement (cf. Chapitre 1). Ce choix résulte du fait que l'on souhaite faire des expériences rapides. Des valeurs du même ordre de grandeur ont été utilisées par Carucci et al., (2006) pour la lincomycine ainsi que par différents auteurs dans leur essais de toxicité (cf. §§ 1.3.5.4). D'autre part, ces concentrations sont plausibles dans le cas d'une station traitant des effluents de l'industrie pharmaceutique.

3.1.1 Effet global sur la biomasse

Le premier effet remarquable observé est visible sur la Figure 3.1. Dans le réacteur qui contient au départ 50 mg/l d'érythromycine, on observe progressivement la formation de très gros floccs noirâtres (« disques » d'environ 1 cm de diamètre) et celle d'une mousse en surface dans laquelle migre une partie de la biomasse ainsi qu'une clarification progressive du milieu.

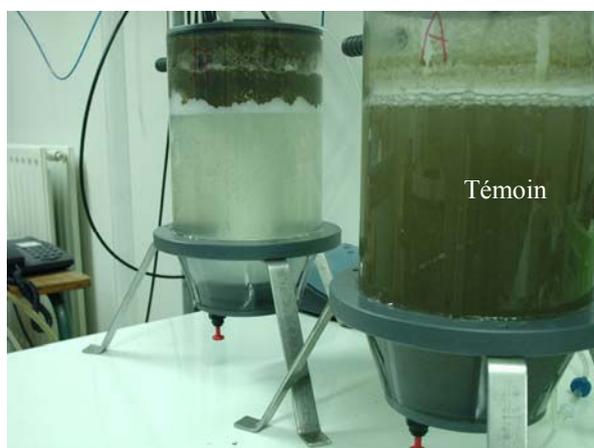


Figure 3.1 : Modification de l'aspect de la biomasse dans un réacteur contenant de l'érythromycine (réacteur témoin à droite)

L'étude des matières sèches et matières volatiles nous permet d'essayer de quantifier la variation de concentration des matières organiques et matières minérales dans les réacteurs.

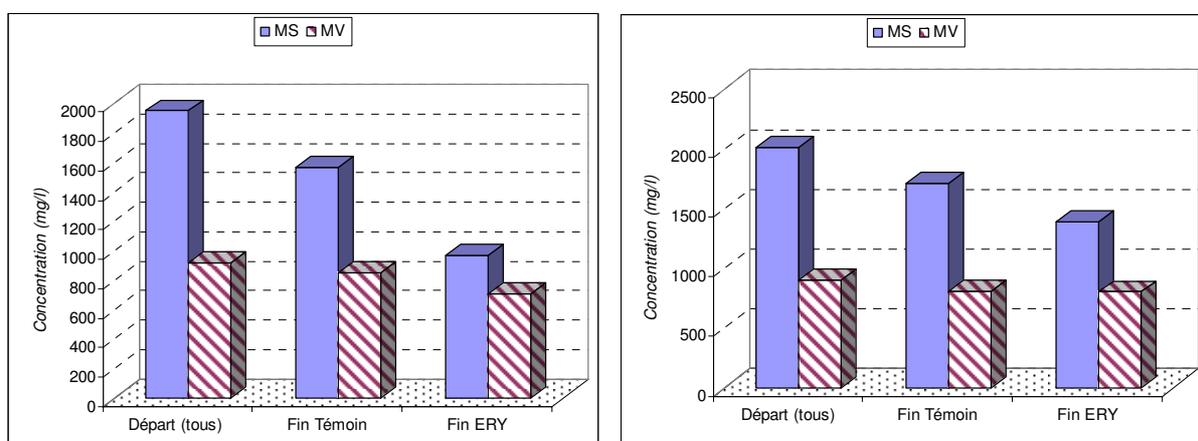


Figure 3.2 : Concentrations de MS et MV mesurées au départ et à la fin de deux manipulations différentes sans et avec 20 mg/l d'érythromycine

Les figures 3.2 (a) et (b) représentent les concentrations de MS et MV mesurées au départ et à la fin de deux manipulations différentes réalisées avec 20 mg/l d'érythromycine.

Les concentrations de MS et MV à la fin des manipulations dans le réacteur témoin sont plus grandes que celles dans le réacteur avec érythromycine. On a observé ce phénomène dans toutes les manipulations. La Figure 3.3 rassemble des valeurs de MS observées en présence de différentes concentrations d'érythromycine. Lorsque la concentration d'érythromycine augmente, la concentration de MS à la fin de la manipulation diminue. Il faut être prudent sur les rapports MV/MS que l'on peut déduire de ces analyses du fait de l'hétérogénéité de la biomasse finale dans les réacteurs contenant l'antibiotique.

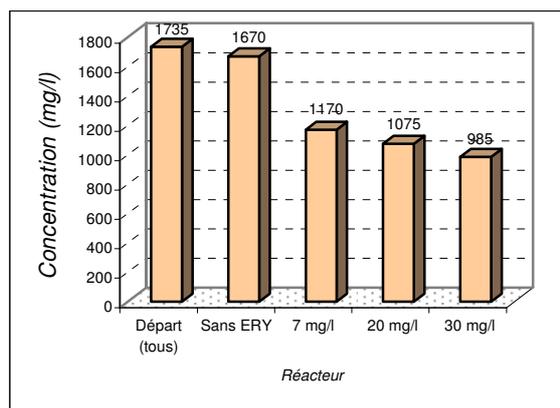


Figure 3.3 : Concentration de MS dans plusieurs réacteurs avec différentes concentrations d'érythromycine

3.1.2 Effet sur la DCO soluble

L'absorbance UV-visible à 254 nm (A_{254}) d'un échantillon filtré permet une mesure indirecte de la DCO soluble. La Figure 3.4 présente les évolutions de A_{254} dans différents réacteurs pour quatre manipulations différentes. En début d'expérience, les concentrations en DCO soluble sont semblables dans les quatre réacteurs de chaque série. Ensuite elles diminuent pendant une période plus ou moins longue. Dans les réacteurs témoins, on observe une diminution de la DCO soluble pendant environ 10h puis une stabilisation. Dans tous les cas la concentration résiduelle en DCO soluble des réacteurs témoins est inférieure à celles des réacteurs contenant de l'érythromycine. Dans ces réacteurs on observe initialement une diminution qui est d'autant plus faible que la dose d'érythromycine est plus forte. Cela est notamment visible sur la Figure 3.4.a. On observe ensuite une stabilisation, voire une augmentation qui est d'autant plus forte que la concentration en érythromycine est plus importante.

On peut conclure de ces résultats que l'on observe, en présence d'érythromycine, une certaine inhibition de la consommation de la DCO soluble. Aux fortes concentrations en érythromycine, il est plausible s'assister à une augmentation de la DCO soluble due à la lyse cellulaire. Il est également possible que l'hydrolyse de la DCO insoluble biodégradable ne soit pas ou peu inhibée, ce qui conduirait à accroître la concentration en DCO soluble.

3.1.3 Effet sur la transformation des matières azotées

L'effet de l'érythromycine a été étudié sur la transformation des matières azotées suivantes : azote organique (via la fluorescence de type « tryptophane »), azote ammoniacal, nitrites et nitrates.

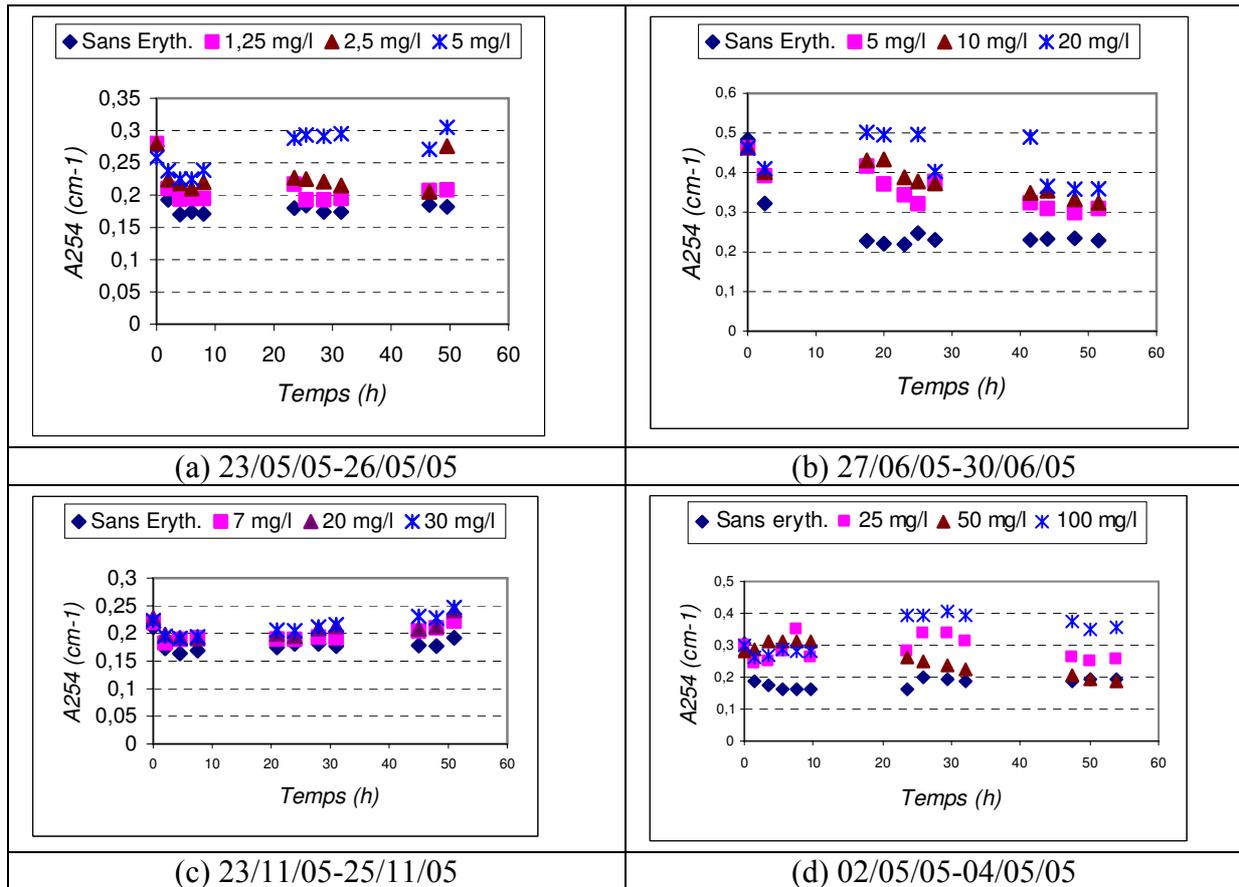


Figure 3.4 : Absorbance à 254 nm (en cm^{-1}) en fonction du temps pour différents réacteurs

3.1.3.1 Azote organique

Pour observer de façon simple les évolutions de l'azote organique on a utilisé la bande relative aux composés protéiniques de type « tryptophane », qui est facile à mettre en évidence par fluorescence synchrone avec une différence de longueur d'onde de 50 nm entre l'excitation et l'émission. La Figure 3.5 montre quelques spectres de fluorescence synchrone obtenus au cours d'une même manipulation.

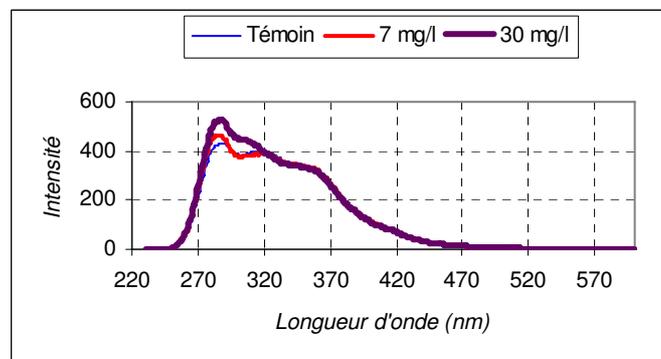


Figure 3.5 : Exemple des spectres de fluorescence synchrone ($\lambda_{\text{ém}} - \lambda_{\text{exc}} = 50 \text{ nm}$) d'échantillons prélevés sur différents réacteurs (temps=4,5 h)

On a extrait l'intensité de la bande $\lambda_{\text{ex}} = 284 \text{ nm}$ et $\lambda_{\text{ém}} = 334 \text{ nm}$ (fluorescence T). La Figure 3.6 présente la fluorescence T en fonction du temps pour différents réacteurs. Dans toutes les expériences la fluorescence T diminue rapidement dans le réacteur sans érythromycine puis se stabilise. Dans les autres réacteurs, la fluorescence T, si elle diminue au départ, se stabilise ensuite à des niveaux plus élevés que ceux observés pour les réacteurs sans érythromycine. Dans la Figure 3.6a la vitesse initiale de diminution de la fluorescence T décroît lorsque la concentration en érythromycine augmente : l'ammonification (transformation de l'azote organique en azote ammoniacal) est inhibée. Dans certains cas, notamment aux fortes concentrations une augmentation de la fluorescence T est visible en fin d'expérience. Le niveau atteint est d'autant plus élevé que la concentration en érythromycine est forte. On peut expliquer cette augmentation par celle d'azote organique provenant de la lyse cellulaire, déjà mentionnée précédemment.

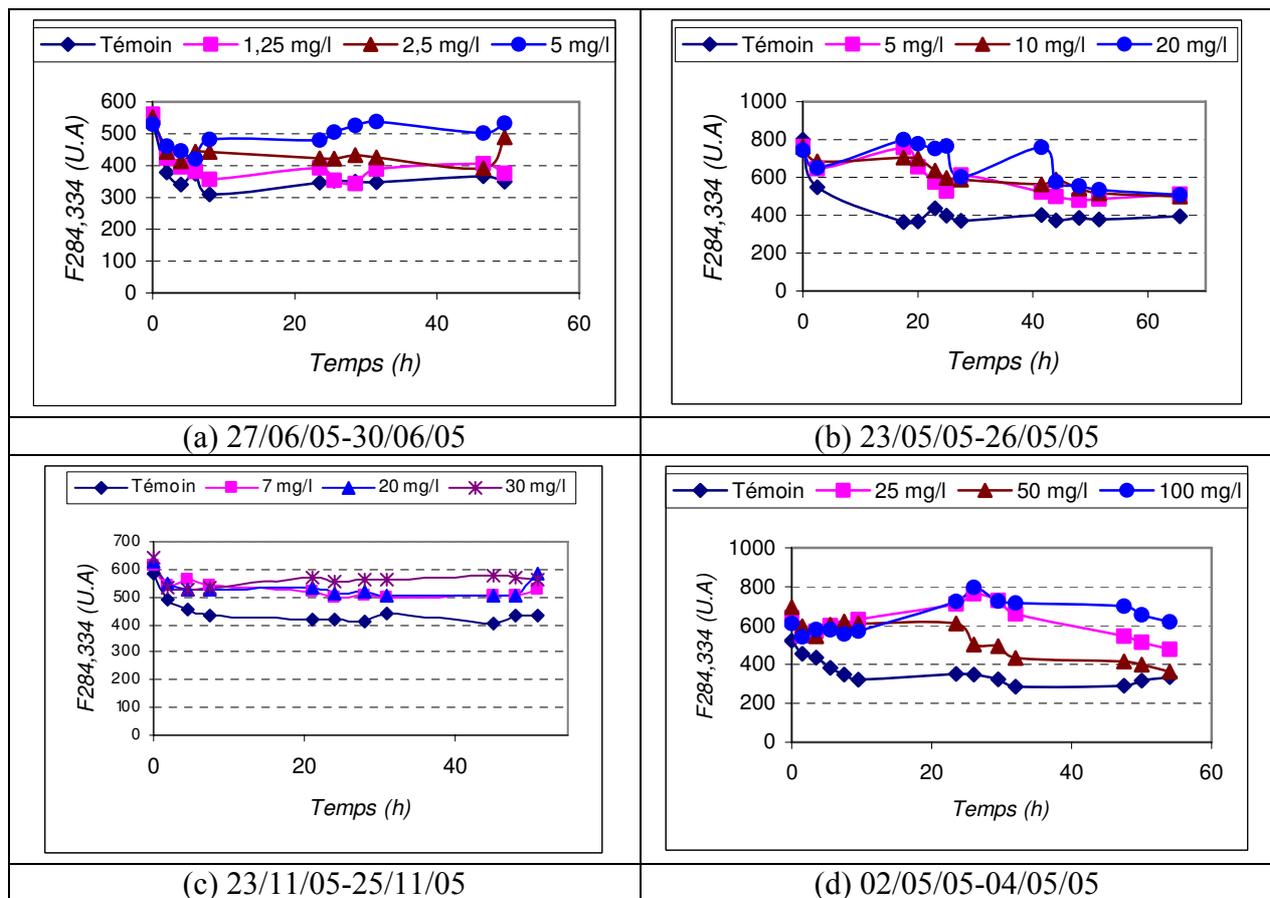


Figure 3.6 : Fluorescence T ($\lambda_{\text{ex}} = 284 \text{ nm}$ et $\lambda_{\text{ém}} = 334 \text{ nm}$) en fonction du temps pour différents réacteurs

3.1.3.2 Azote ammoniacal

Les Figures 3.7 (a) à (d) montrent la variation des concentrations d'azote ammoniacal en fonction du temps avec différentes concentrations d'érythromycine. Ces figures montrent que dans les réacteurs témoin l'azote ammoniacal disparaît complètement au bout d'un temps plus ou moins long. Dans la majorité des essais, ce temps est de l'ordre de 20h mais cela dépend de la concentration initiale en azote ammoniacal ainsi que de la quantité (et la qualité) des bactéries nitrifiantes présentes dans la biomasse utilisée. Dans les réacteurs contenant peu d'érythromycine (Figure 3.7a) la vitesse initiale de consommation de l'ammonium diminue lorsque la concentration en érythromycine augmente. Dans l'expérience à 1,25 mg/l d'érythromycine, on n'observe pas de différence flagrante par rapport au réacteur témoin en ce qui concerne l'azote ammoniacal. Dans l'expérience à 2,5 mg/l une consommation totale d'azote ammoniacal a été observée mais au bout de 48 h environ. A partir de 5 mg/l d'érythromycine la consommation de l'azote ammoniacal est bloquée à partir de quelques heures après la mise en contact. La nitrification (première étape de la nitrification) est donc apparemment inhibée par l'érythromycine. Cette inhibition dépend de la concentration initiale en antibiotique. Dans le cas de concentration « moyenne » (dans le cas présent 2,5 mg/l) une nitrification totale a pu se produire avec un temps de contact élevé. Dans le cas de l'expérience à très forte concentration en érythromycine (267 mg/l), une production d'azote ammoniacal est visible : elle peut s'expliquer par la forte lyse cellulaire sus-mentionnée.

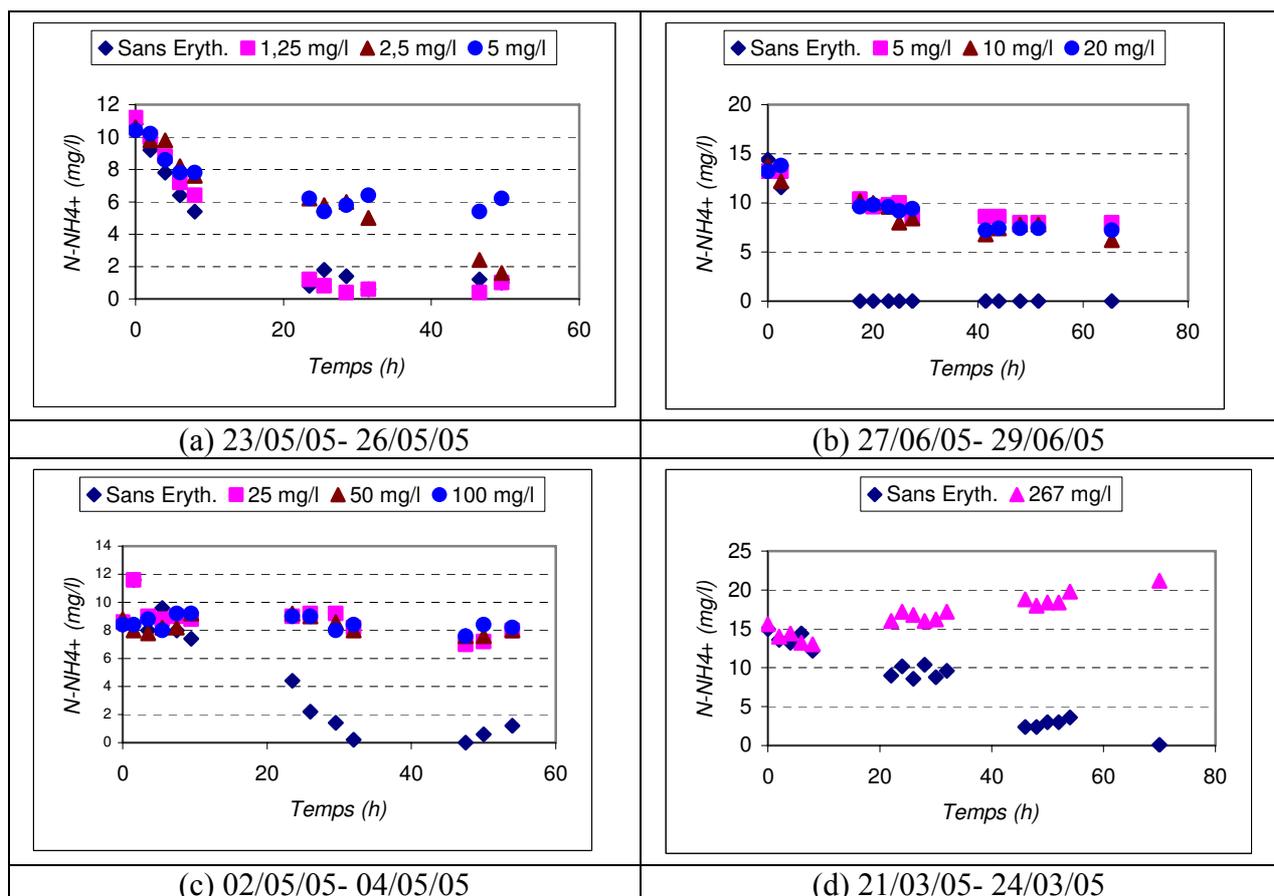
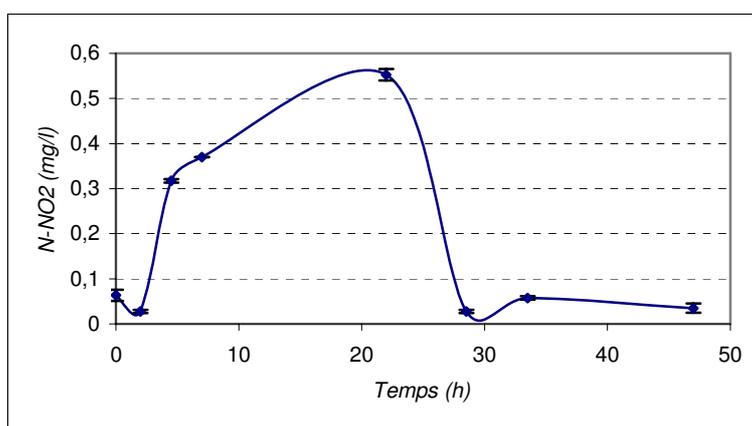


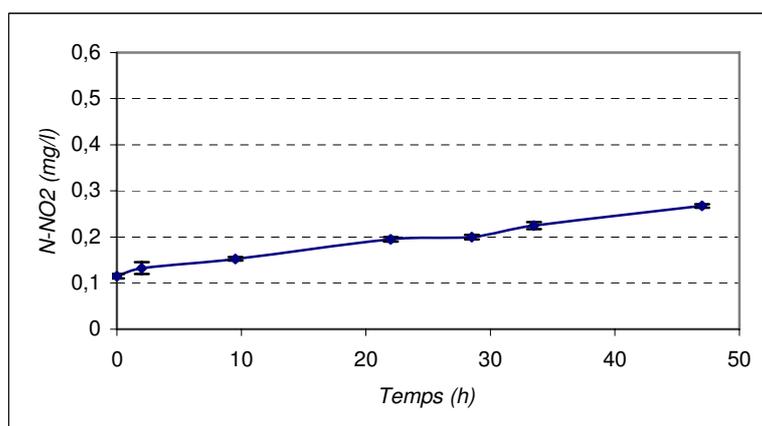
Figure 3.7 : Concentration en azote ammoniacal avec différentes concentrations d'érythromycine

3.1.3.3 Nitrites

La Figure 3.8 montre les variations des concentrations en nitrites dans le réacteur témoin et dans un réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine. Dans le réacteur témoin on observe la courbe attendue dans le cas d'une réaction $A \rightarrow B \rightarrow C$ (ammonium \rightarrow nitrites \rightarrow nitrates dans le cas présent). Par contre dans le réacteur avec l'érythromycine, une augmentation constante (3×10^{-3} mg/l/h dans l'exemple présenté) de la concentration en nitrites. La nitratisation est donc elle-aussi légèrement inhibée.



(a)



(b)

Figure 3.8 : Evaluation de la concentration du nitrite dans le réacteur témoin (a) et dans le réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine (b)

3.1.3.4 Nitrates

Les nitrates ont été dosés soit par HPLC ionique soit par spectrométrie UV-visible à partir de la dérivée seconde du spectre. Cependant cette dernière méthode ne peut pas être utilisée lorsque la concentration en nitrate est trop élevée, du fait de la saturation du signal. Dans certaines expériences on s'est donc contenté de suivre l'absorbance à 220 nm pour avoir une indication de la production de nitrates. La Figure 3.9 montre l'évolution des nitrates à partir d'un dosage par HPLC. La production des nitrates est ralentie en présence d'érythromycine et cette inhibition est fonction de la concentration en antibiotique.

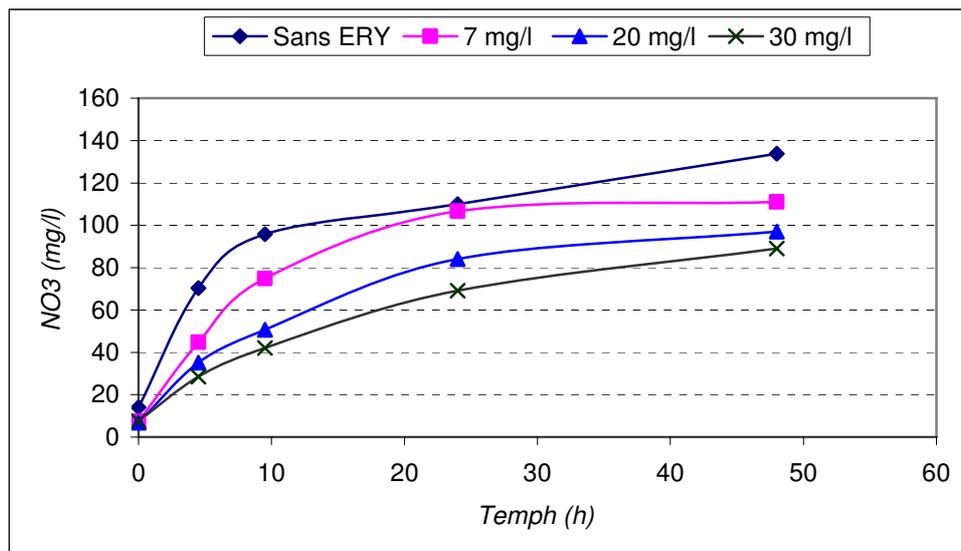


Figure 3.9 : Influence de la teneur en érythromycine sur la production de nitrates (dosage HPLC)

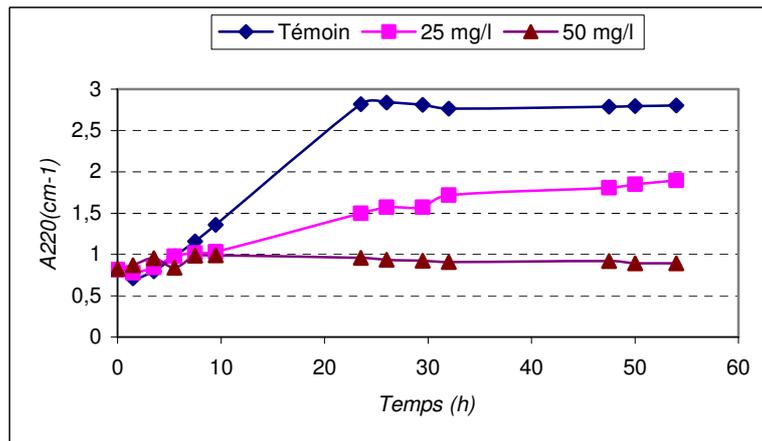
La Figure 3.10 montre quelques résultats obtenus avec un suivi simple de l'absorbance à 220 nm. Une inhibition totale est observée aux fortes concentrations en érythromycine (50 mg/l dans la Figure 3.10a) alors qu'une concentration de 1 mg/l n'a pas d'effet apparent. Un temps de contact long favorise une nitratisation totale (Figure 3.10c). On peut noter qu'une même concentration en érythromycine induit des inhibitions plus ou moins fortes suivant les expériences. La réponse dépend aussi de l'activité intrinsèque des boues activées prélevées sur la STEP le jour de la manipulation. On reviendra ultérieurement sur ce point.

3.1.4 Effet de l'érythromycine sur la morphologie des boues

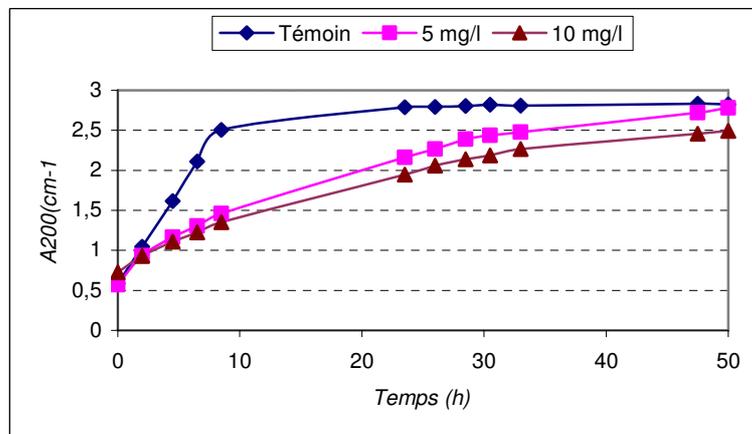
Dans le paragraphe 3.1.1 l'effet drastique de l'érythromycine sur la biomasse a été mis en évidence de façon globale. Nous allons maintenant tenter d'approcher de façon plus fine cette détérioration à partir d'observations microscopiques et de résultats issus d'un traitement automatisé des images obtenues.

Par analyse des images « état sec » les paramètres suivants ont été calculés : surface totale occupée par la biomasse (Stot), surface occupée par les floes (Sfloes), nombre de floes (Nfloes), nombre de filaments (Nfil), surface occupée par les filaments (Lfil) et longueur du squelette des filaments (Ls). On a également calculé la surface du floe « moyen » (Smoy) pour chaque image à partir de Sfloes et de Nfloes.

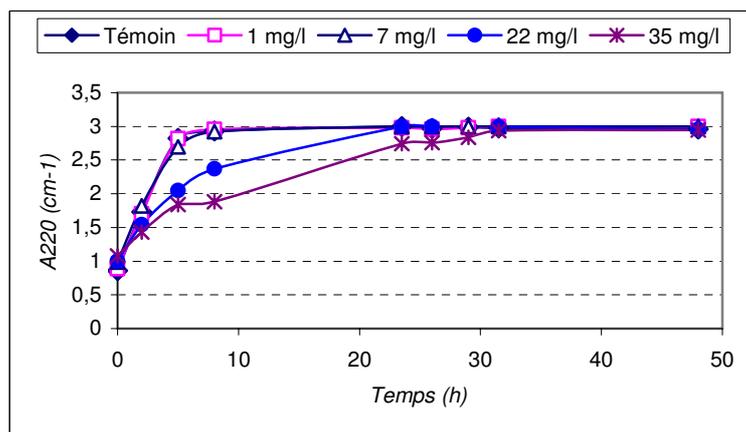
On présente en préalable quelques images microscopiques prises pendant une manipulation (Figure 3.11). Elles sont prises au début de la manipulation, après 24 heures et à la fin de la manipulation. Ces photos montrent de façon très visible le changement de surface de floes par l'effet d'érythromycine.



(a) 02/05/05-04/02/05



(b) 20/06/05-22/06/05



(c) 17/10/05-19/10/05

Figure 3.10 : Influence de la teneur en érythromycine sur la production de nitrate (estimation par absorbance à 220 nm)

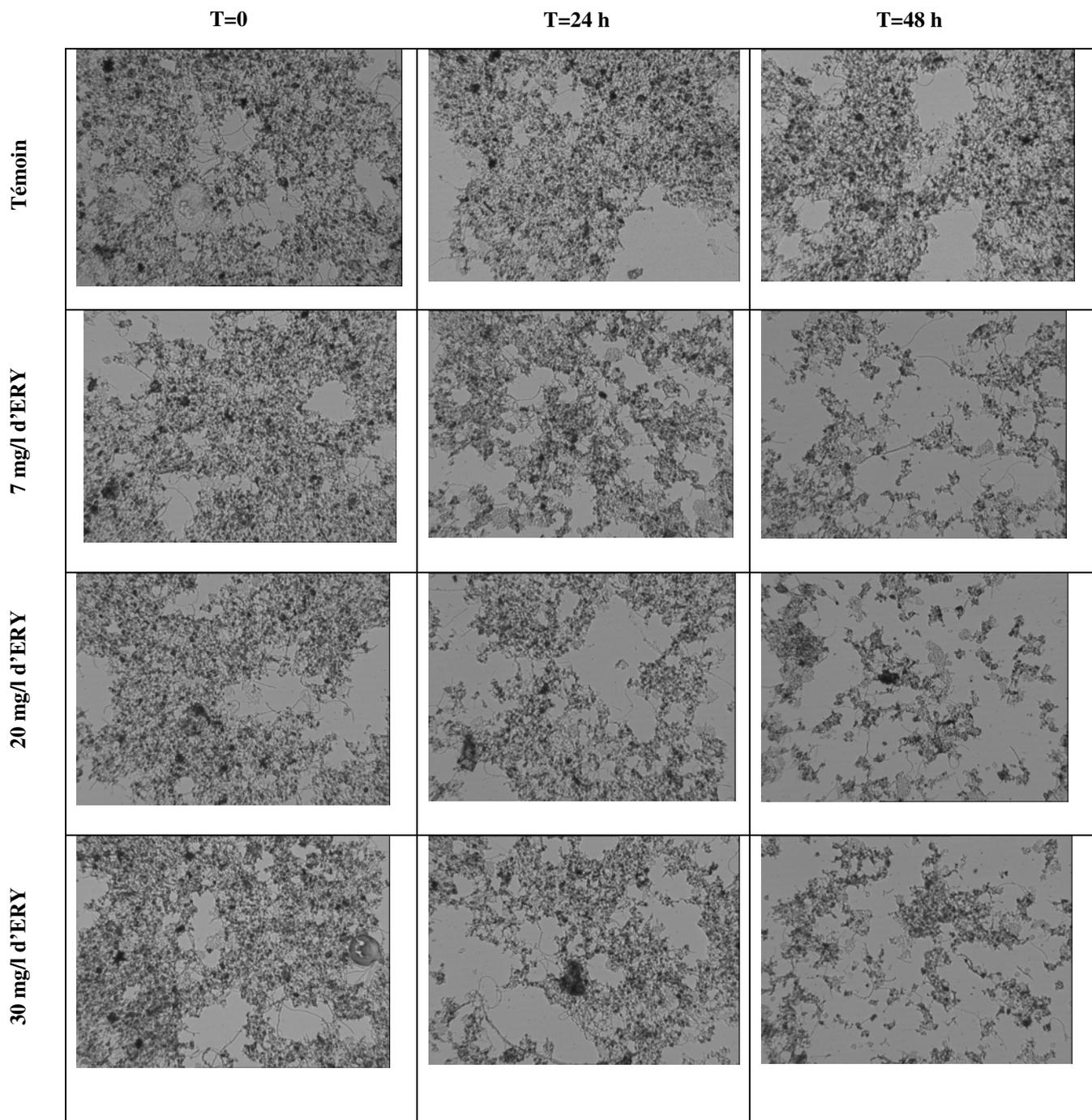


Figure 3.11 : Quelques images caractéristiques du changement d'aspect de la biomasse

3.1.4.1 Modification des flocs

Dans une première étape, on a étudié comment variait la surface totale occupée par la biomasse. La Figure 3.12 compare l'évolution de cette grandeur entre un réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine et son réacteur témoin. Des droites de tendance ont été tracées (au sens des moindres carrés). Une faible décroissance de la biomasse totale contenue dans le réacteur témoin est observée. Elle est beaucoup plus importante dans le réacteur contenant l'antibiotique. La surface des flocs (Figure 3.13) varie de façon semblable (elle reste légèrement inférieure à la surface de la biomasse). A l'inverse le nombre de flocs (Figure 3.14) augmente beaucoup plus au cours du temps dans le réacteur avec érythromycine que dans le réacteur témoin.

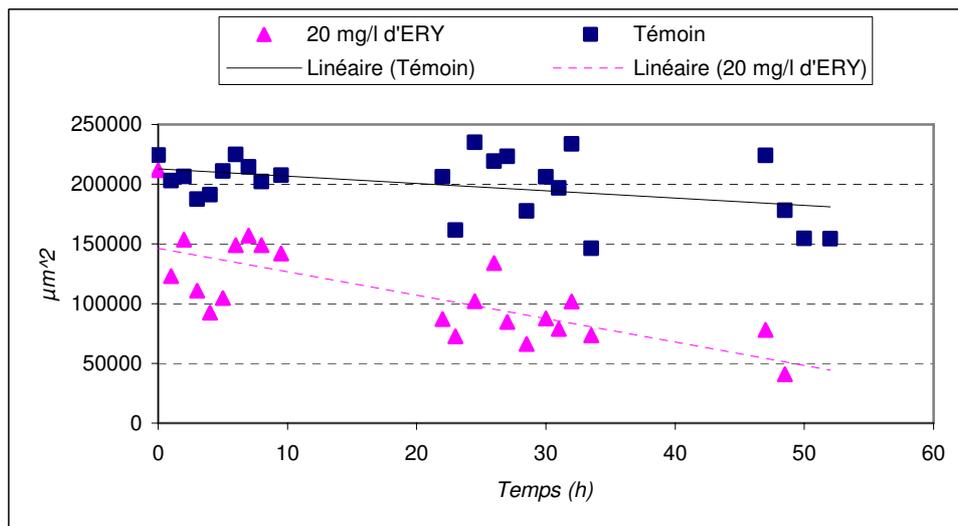


Figure 3.12 : Variation de la surface totale moyenne occupée par la biomasse (par image) en fonction du temps

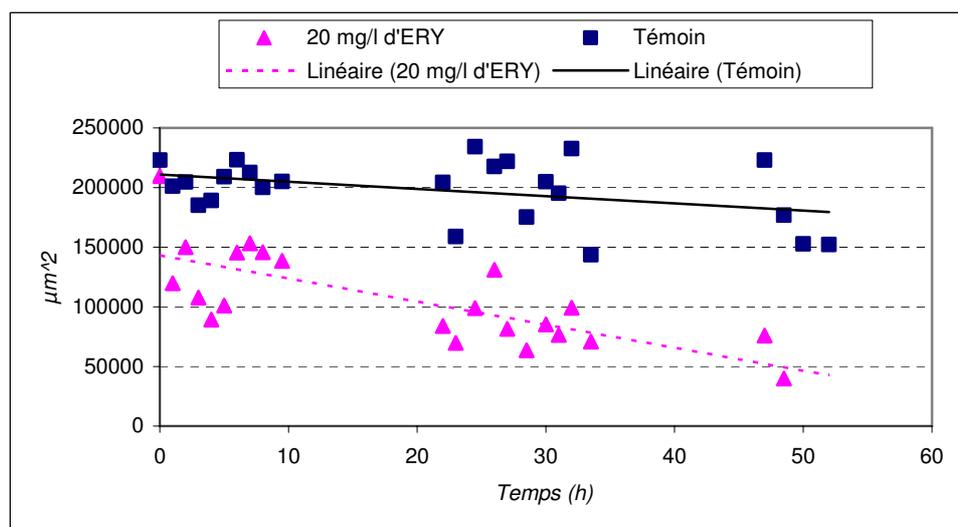


Figure 3.13 : Variation de la surface moyenne occupée par les flocs (par image) en fonction du temps

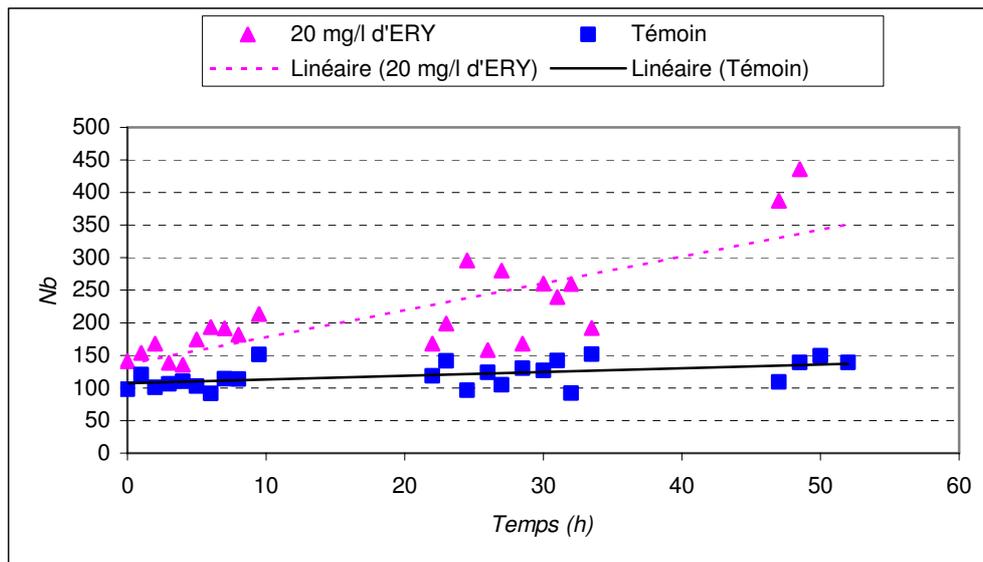


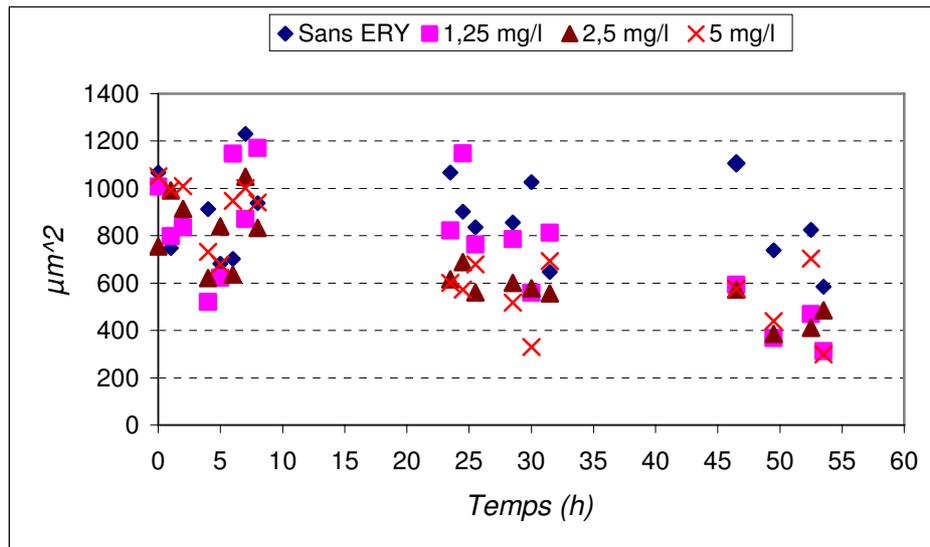
Figure 3.14 : Variation du nombre moyen de floccules (par image) en fonction du temps

On peut en déduire que la biomasse sous forme de floccules se fragmente au cours du temps en présence d'antibiotique : la surface moyenne des floccules dans le réacteur témoin demeure beaucoup plus élevée qu'en présence d'antibiotique (Figure 3.13). Cette analyse ne prend pas en compte les gros floccules noirâtres dont il a été fait mention dans le paragraphe 3.1.1 et qui ne peuvent pas être étudiés par microscopie optique.

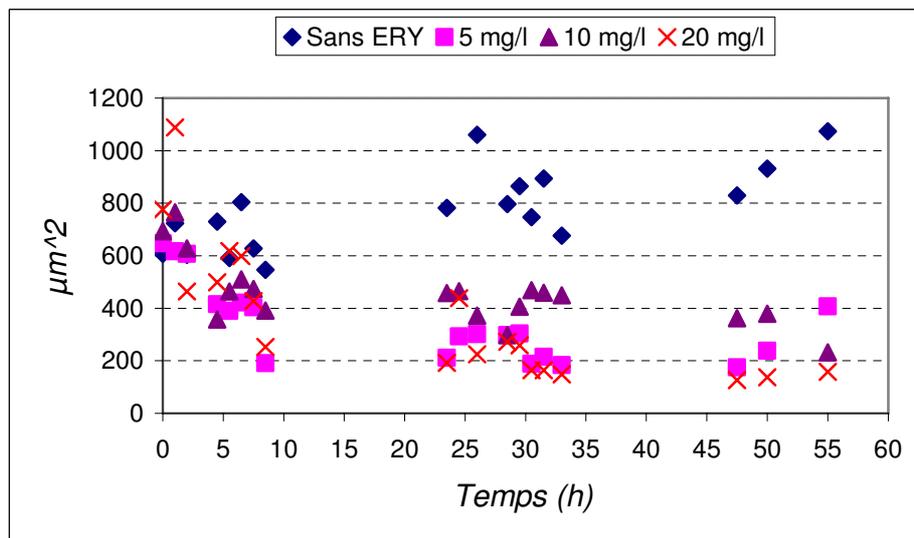
La variation de surface du floccule « moyen » commence dès les premières heures de la mise en contact. Elle a été observée pour toutes les expériences, avec une amplitude qui dépend de la concentration en antibiotique comme le montre la Figure 3.15. Elle est peu visible dans le cas des faibles concentrations (Figure 3.15a) et très marquée dans le cas des fortes concentrations (Figure 3.15b).

3.1.4.2 Bactéries filamenteuses

On a ensuite étudié la variation des caractéristiques des bactéries filamenteuses en fonction du temps. Les figures 3.16 (a) et (b) présentent, respectivement, les variations de la surface moyenne occupée par les filaments (L_{fil}) et de la longueur moyenne de leur squelette (L_s) pour une manipulation réalisée avec 20 mg/l d'érythromycine, en comparaison avec le réacteur témoin. On rappelle que les bactéries filamenteuses prises en compte sont principalement celles qui se trouvent à l'extérieur des floccules.



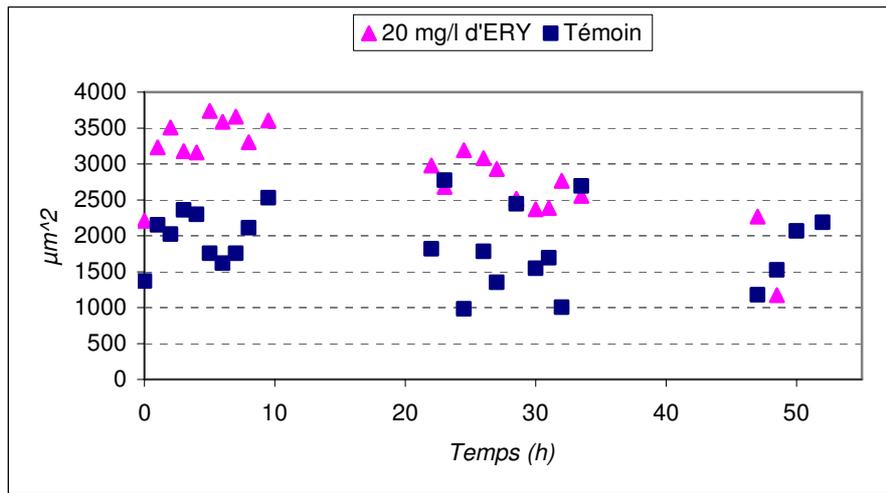
(a) 27/06/05-29/06/05



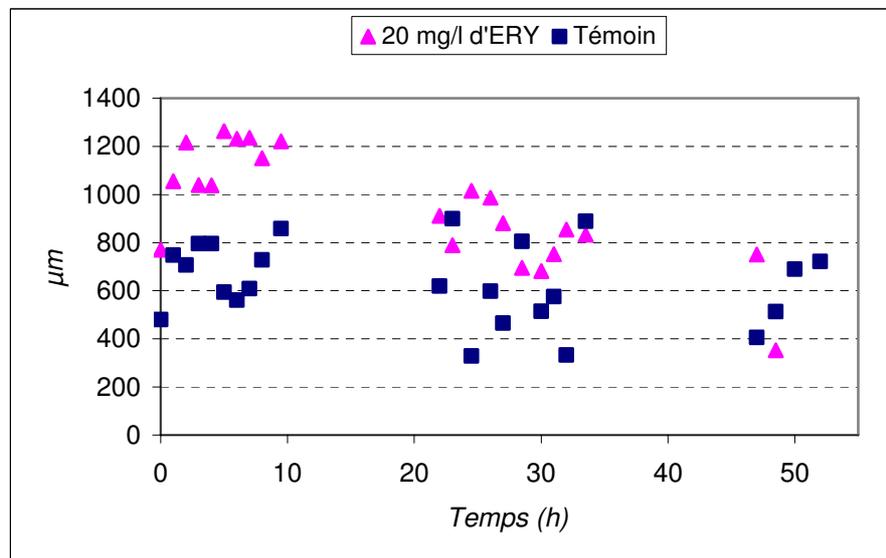
(b) 20/06/05-22/06/05

Figure 3.15 : Surface du floc « moyen » en fonction du temps et de la concentration en érythromycine

Dans les premières heures de la manipulation on observe une augmentation de la surface occupée par les bactéries filamenteuses ainsi qu'une augmentation de leur longueur dans le réacteur contenant l'érythromycine. Le rapport entre la surface occupée entre les deux réacteurs est de l'ordre de 1,5. Ensuite (à partir du second jour) la différence entre les deux réacteurs est moins marquée. Les observations que l'on peut faire en ce qui concerne le nombre de filaments moyen par image vont dans le même sens (Figure 3.17)



(a)



(b)

Figures 3.16 : Variations de la surface occupée par les filaments (a) et de la longueur de squelette (b) en fonction du temps en présence et en absence d'érythromycine

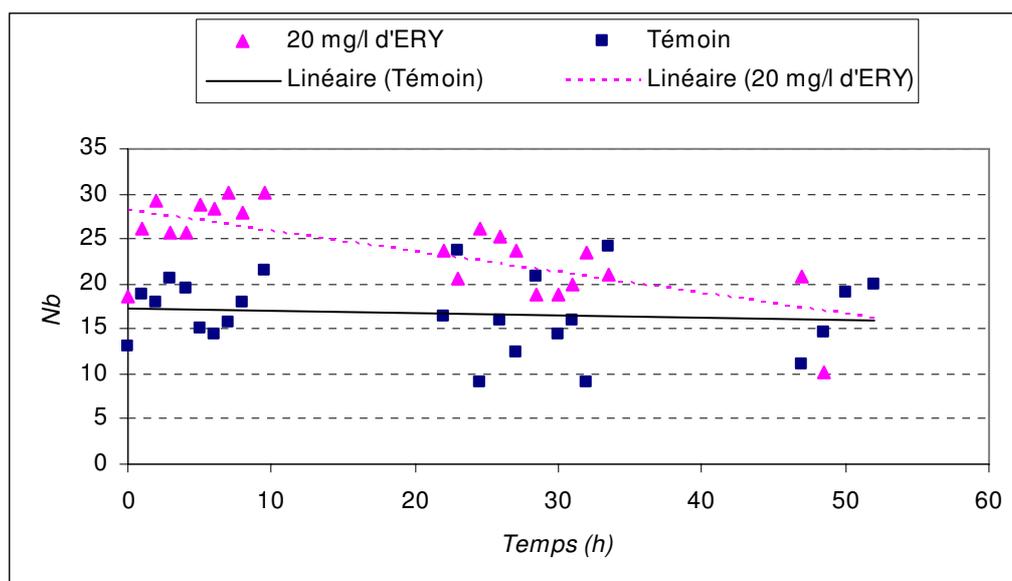


Figure 3.17 : Variation de nombre moyen de filaments (par image) en fonction du temps en présence et en absence d'érythromycine

Pour essayer d'établir une règle générale, d'autres expériences ont été examinées. Dans la Figure 3.18 la surface occupée par les filaments a été représentée pour différentes concentrations d'érythromycine. On a également tracé les courbes de tendance pour le réacteur témoin et le réacteur avec la plus grande concentration en érythromycine. De façon générale on remarque que la surface occupée par les filaments à l'extérieur des floes est plus importante en présence d'érythromycine que dans le réacteur témoin. De même la longueur moyenne du squelette (Figure 3.19) et le nombre de filaments détectés (Figure 3.20) sont toujours supérieurs en présence d'antibiotique.

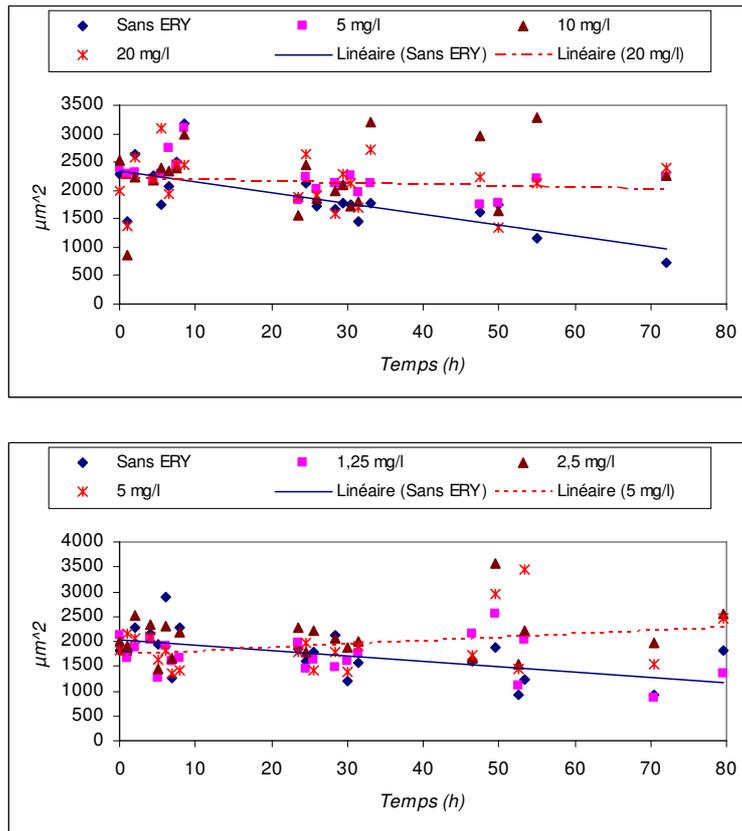


Figure 3.18 : Variation de la surface occupée par les filaments en fonction de la concentration en érythromycine

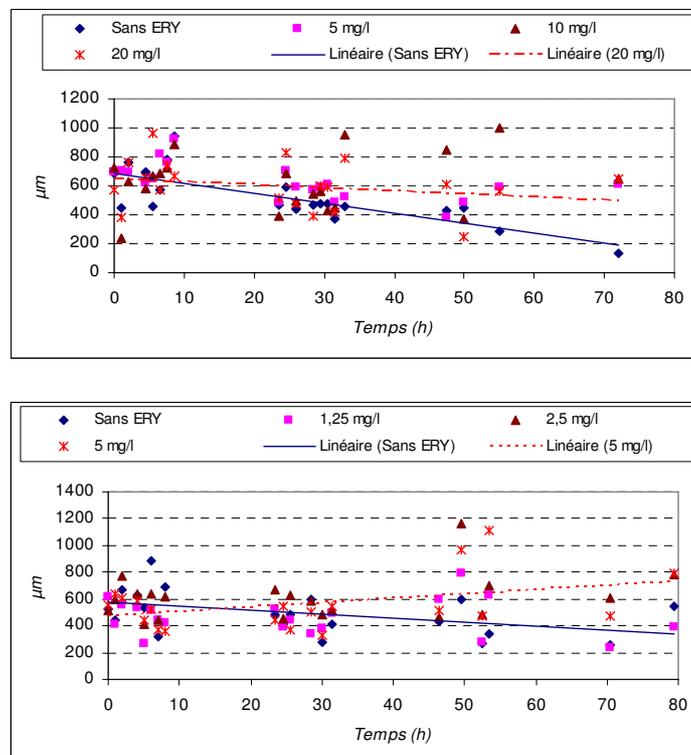


Figure 3.19 : Variation de la longueur moyenne de squelette en fonction de la concentration en érythromycine

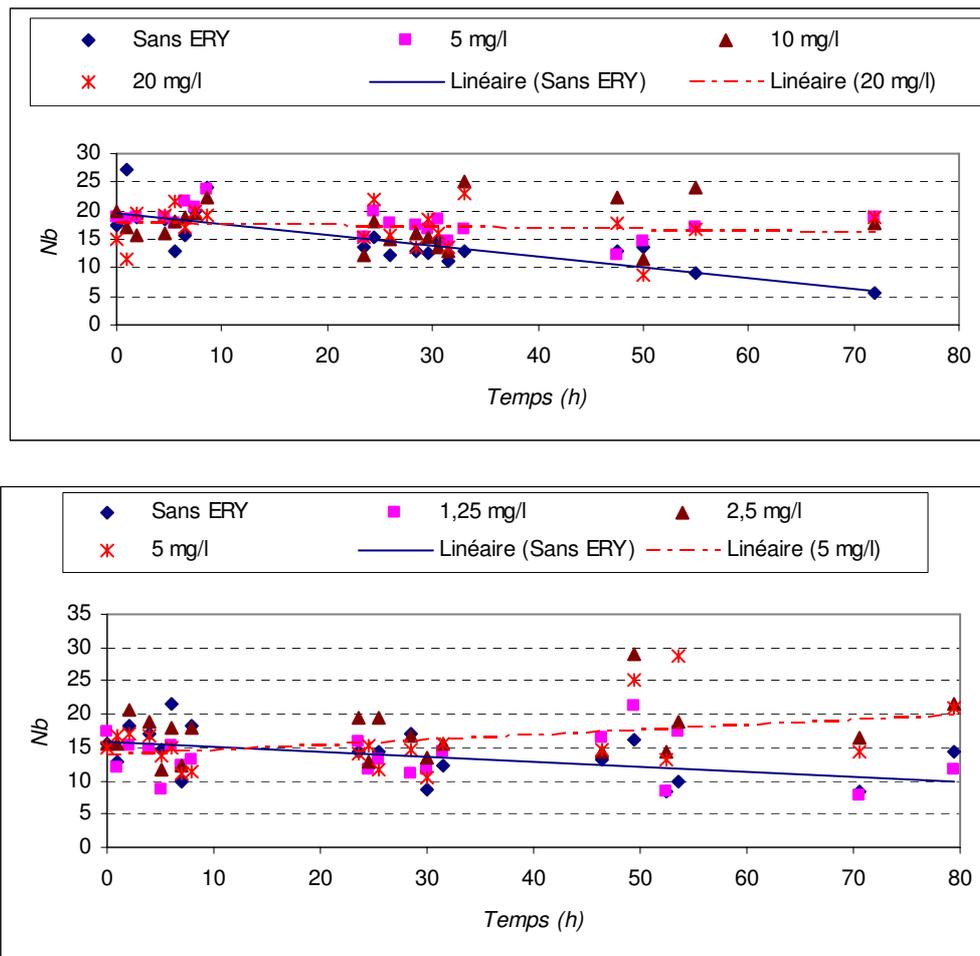


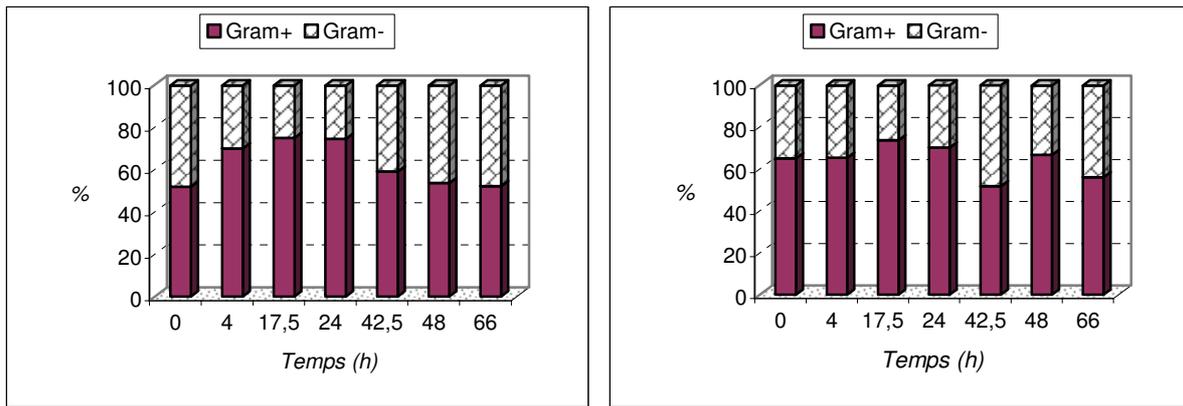
Figure 3.20 : Variation du nombre moyen de filaments en fonction de la concentration d'érythromycine

L'augmentation apparente de la présence de bactéries filamenteuses est cohérente par rapport à la fragmentation des flocs observée par ailleurs. Il faut cependant observer que les boues activées utilisées sont peu « filamenteuses » dans le sens où la surface occupée par les bactéries filamenteuses par rapport à la surface totale occupée par la biomasse reste faible (1 % environ). Dans tous les cas, les boues activées faisaient montre par ailleurs d'une très bonne décantabilité.

3.1.5 Caractéristiques Gram

L'analyse des images couleurs réalisée avec le programme « Gram_frag » fournit des informations relatives à la biomasse totale et à celle de type filamenteux à partir de la couleur prédominante de chaque pixel (rouge ou bleu).

La Figure 3.21 présente les résultats concernant la biomasse totale (flocs et filaments) en fonction du temps pour un réacteur contenant 20 mg/l d'érythromycine et son réacteur témoin. Vu la précision des mesures (5 à 10%) on ne peut pas conclure quant à une différence claire entre les variations des pourcentages de Gram⁺ et de Gram⁻ entre les deux réacteurs.

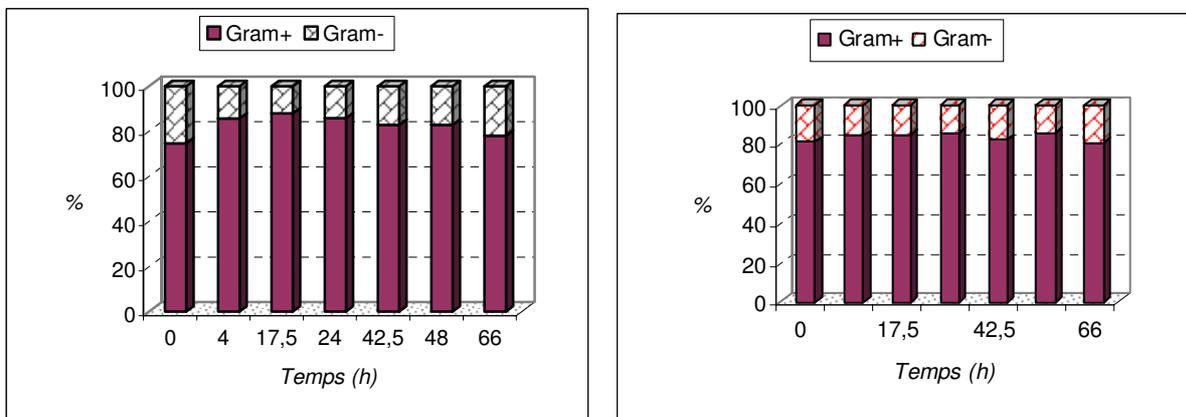


(a) Réacteur témoin

(b) Réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine

Figure 3.21 : Variation du pourcentage de bactéries Gram⁻ et Gram⁺ dans la biomasse totale (flocs et filaments) en présence et en absence d'érythromycine

Les résultats concernant la biomasse filamenteuse sont présentés dans les Figures 3.22 (surface occupée par les bactéries filamenteuses) et 3.23 (longueur du squelette des bactéries filamenteuses). Vue la précision des mesures (5 à 10%) on ne peut pas conclure quant à une différence claire entre les variations des pourcentages de bactéries filamenteuses de type Gram⁺ et Gram⁻ entre les deux réacteurs.



(a) Réacteur témoin

(b) Réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine

Figure 3.22 : Variations des pourcentages de bactéries filamenteuses de type Gram⁻ et Gram⁺ (basée sur la surface occupée par les bactéries) en absence et en présence d'érythromycine

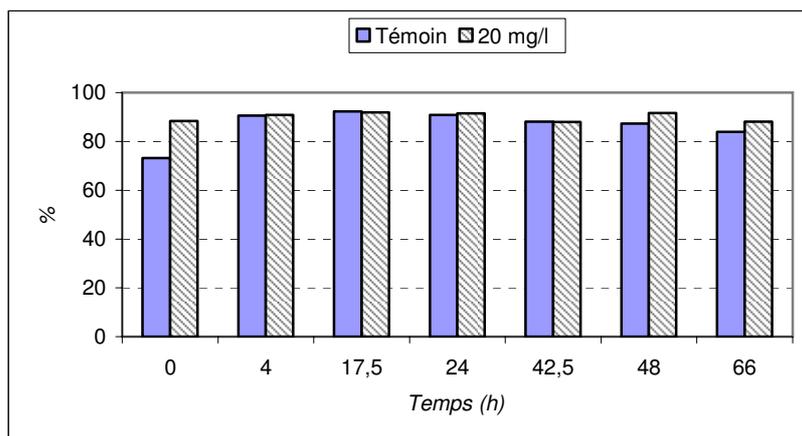
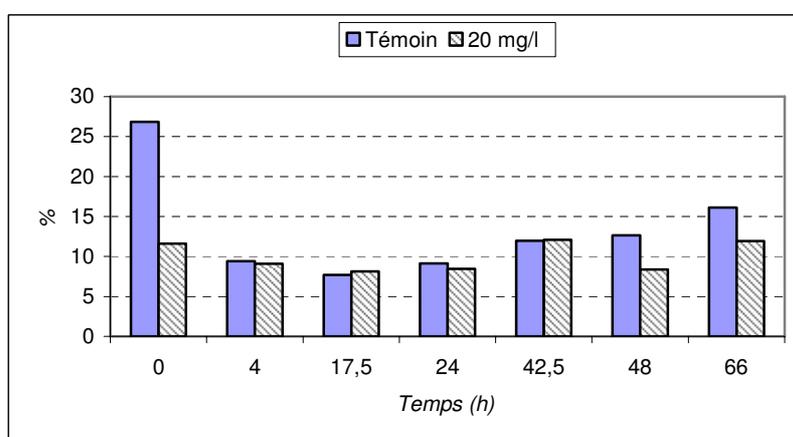
(a) Gram⁺(b) Gram⁻

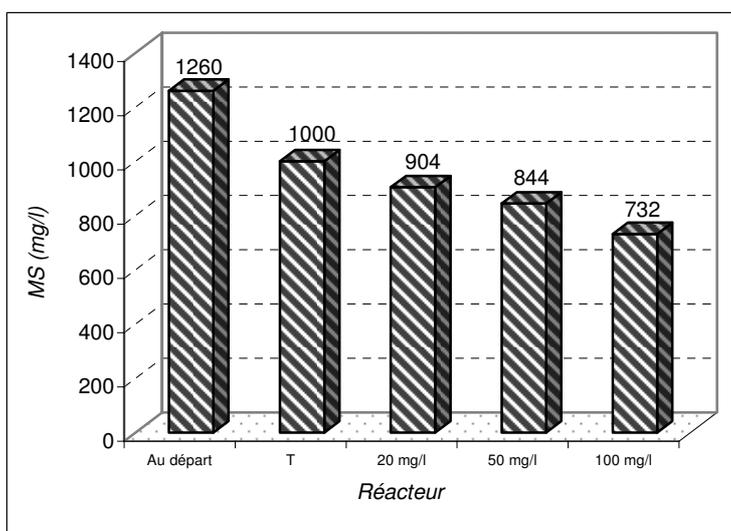
Figure 3.23 : Variations des pourcentages de bactéries filamenteuses de type Gram⁻ et Gram⁺ (basée sur la longueur du squelette) en absence et en présence d'érythromycine

En conclusion de ces essais, il n'a pas été possible de détecter une modification de la répartition entre bactéries Gram⁺ et Gram⁻, notamment des bactéries filamenteuses, à partir de la coloration Gram en présence d'érythromycine.

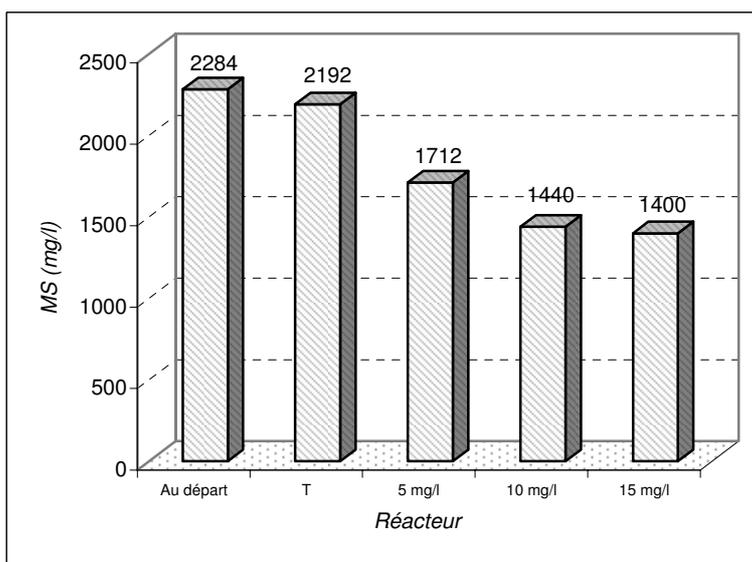
3.2 Effet de la tylosine

3.2.1 Effet global sur la biomasse

Les expériences réalisées montrent que la tylosine a un effet global sur la biomasse semblable à celui de l'érythromycine. La concentration de MS diminue dans les réacteurs en présence de tylosine à la fin des manipulations. Le taux de diminution est en corrélation directe avec la concentration de la tylosine dans le réacteur : plus la concentration de tylosine augmente, plus la perte de biomasse en fin de manipulation est importante. La Figure 3.24 montre les concentrations de MS au début et à la fin de deux manipulations différentes.



(a) 19/04/06-21/04/06



(b) 10/05/06-12/05/06

Figure 3.24 : Concentrations en MS mesurées dans les réacteurs au début et à la fin de deux manipulations

3.2.2 Effet de la tylosine sur les propriétés spectroscopiques des eaux usées

Lors de l'étude avec l'érythromycine, la spectroscopie UV-Visible ainsi que la fluorescence en mode synchrone avaient été largement utilisées pour le suivi des expériences. Malheureusement dans le cas de la tylosine ce n'est pas possible car cet antibiotique interfère avec la mesure de la DCO soluble (absorbance à 254 nm) et de la fluorescence de type tryptophane.

Pour montrer ces interférences, de la tylosine a été ajoutée à un échantillon d'eau usée (prélevée à 8h du matin, donc contenant peu de DCO soluble), en restant dans la gamme utilisée lors des expériences de toxicité. Le spectre UV-Visible (Figure 3.25) montre une large bande d'absorption centrée vers 290 nm. L'absorbance à cette longueur d'onde augmente avec la concentration en tylosine.

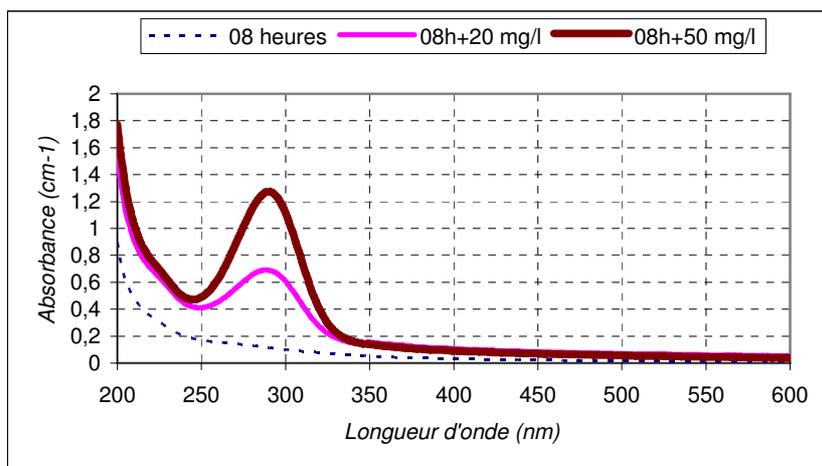


Figure 3.25 : Effet de la tylosine sur la courbe d'UV-Visible

La figure 3.26 montre l'influence de la tylosine sur le spectre de fluorescence synchrone du même échantillon d'eau usée : suivant la composition de l'eau usée, la tylosine induit soit une augmentation soit une diminution de la fluorescence de type « tryptophane » (bande centrée à 280 nm). La fluorescence intrinsèque de la tylosine est faible mais elle a un comportement complexe vis-à-vis des molécules présentes dans l'eau usée.

Dans ces conditions il n'a pas été possible d'utiliser les méthodes optiques pour le suivi des expériences.

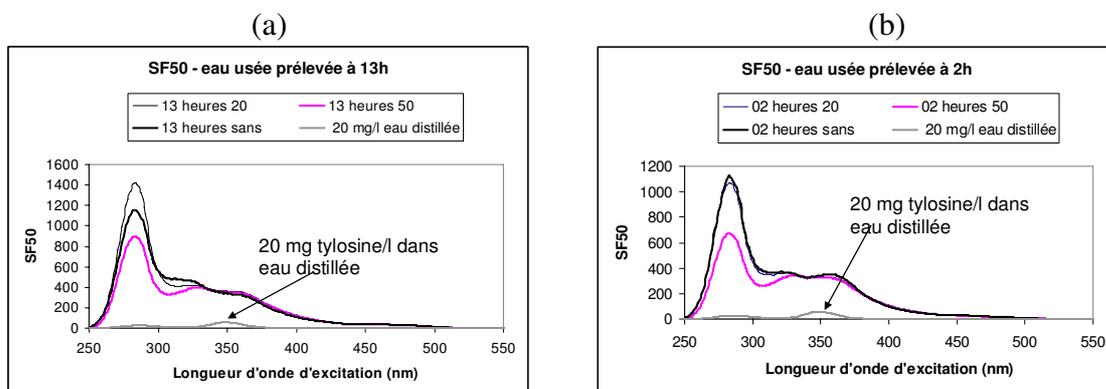


Figure 3.26 : Effet de la tylosine sur la fluorescence de type « tryptophane »

3.2.3 Effet sur la transformation des matières azotées

Comme pour l'érythromycine, l'effet de la tylosine a été étudié sur la transformation des matières azotées suivantes : azote ammoniacal, nitrites et nitrates.

3.2.3.1 Azote ammoniacal

La Figure 3.27 présente la variation de concentration en azote ammoniacal dans un réacteur contenant 10 mg/l de tylosine et dans son réacteur témoin. Le phénomène observé est très semblable à l'effet de l'érythromycine.

Cette tendance a été confirmée sur l'ensemble des expériences avec la tylosine (Figure 3.28). On note aussi qu'avec 5 mg/l de tylosine, on parvient à obtenir une disparition complète de l'azote ammoniacal mais au bout d'un temps de contact beaucoup plus long que dans le réacteur témoin. Si on ne peut pas conclure sur l'inhibition de l'ammonification, il est clair que la tylosine inhibe la consommation d'ammonium.

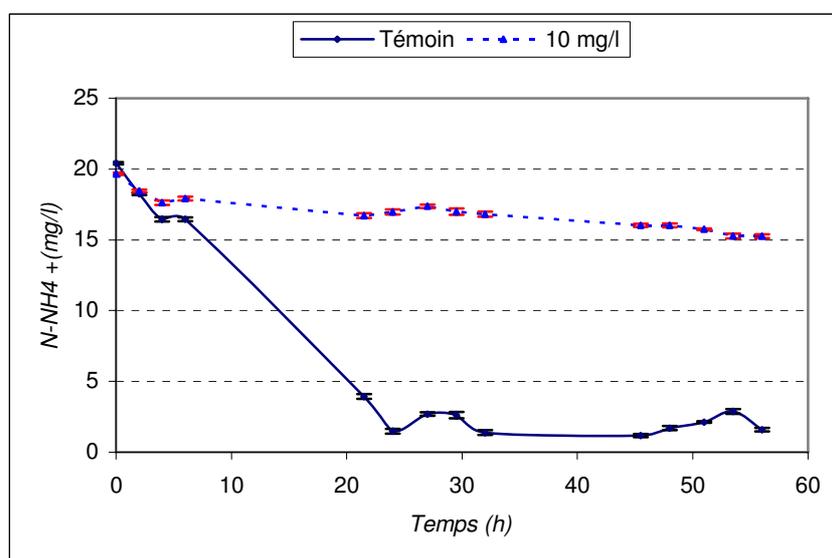


Figure 3.27 : Variation de l'azote ammoniacal en fonction du temps dans un réacteur contenant 10 mg/l de tylosine et son réacteur témoin

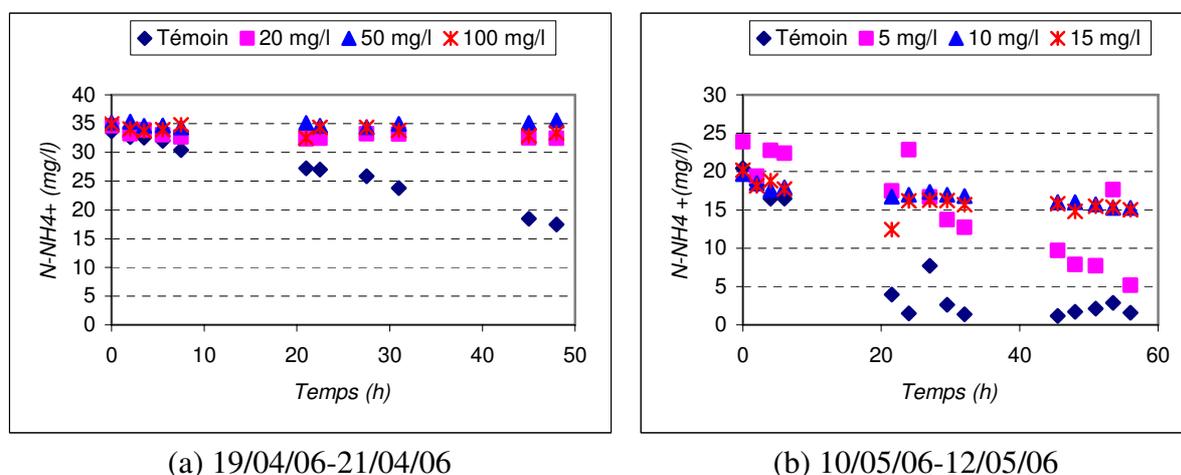
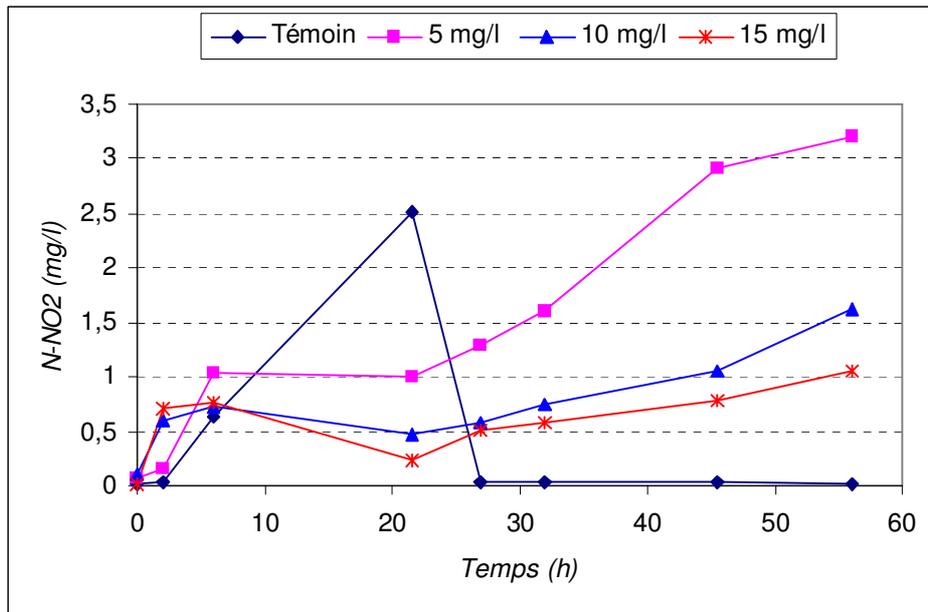


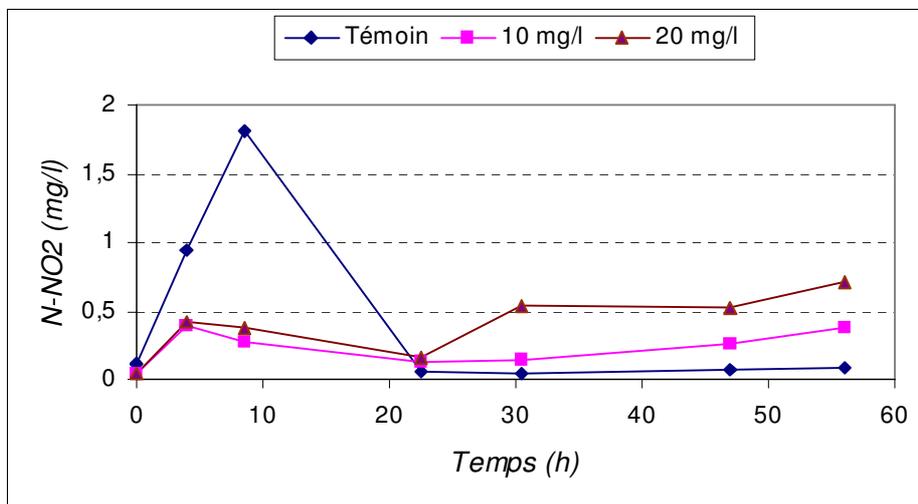
Figure 3.28 : Variation de la concentration en azote ammoniacal en fonction de la concentration de tylosine

3.2.3.2 Nitrites

Les nitrites dans les réacteurs témoin sont produits et ensuite consommés par les bactéries nitrifiantes selon le schéma réactionnel attendu. En revanche dans les réacteurs avec la tylosine, les nitrites s'accumulent lentement en fonction du temps (Figure 3.29). Cependant on ne distingue pas de règle fixe concernant l'influence de la concentration en antibiotique.



(a) 19/04/06-21/04/06



(b) 13/06/06-15/06/06

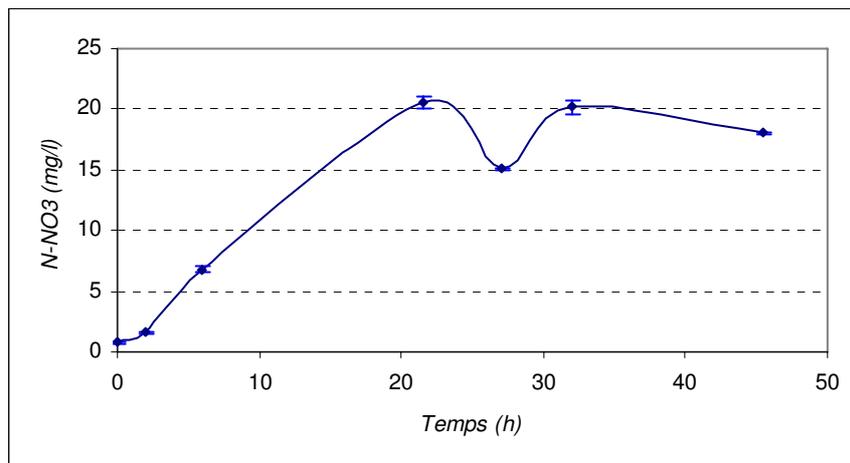
Figure 3.29 : Variation des nitrites en fonction du temps pour différentes concentrations en érythromycine

3.2.3.3 Nitrates

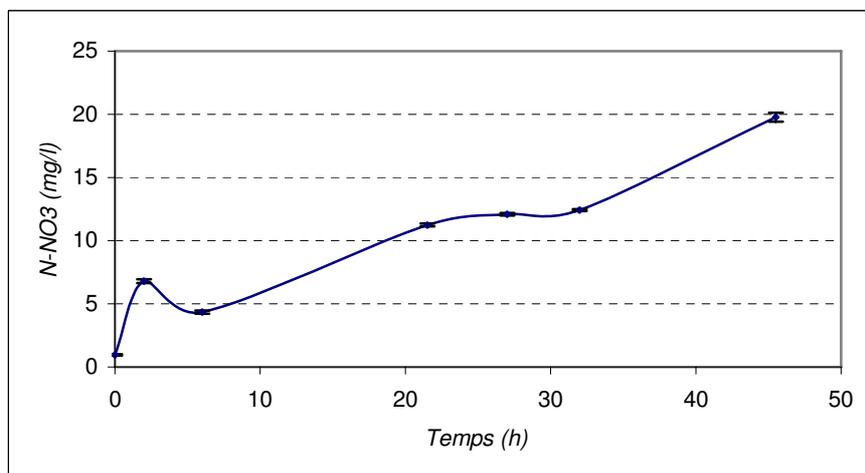
Compte tenu des difficultés rencontrées avec la spectrométrie UV-Visible, la concentration en nitrates a été mesurée par dosage chimique. La Figure 3.30 présente les résultats obtenus lors d'une manipulation.

La production de nitrates est inhibée par la tylosine, même si à la dose utilisée dans cet essai est faible. La concentration finale obtenue dans le réacteur contenant l'antibiotique est proche de celle obtenue dans le réacteur témoin.

La Figure 3.31 montre les variations de la concentration en nitrates pour différentes concentrations de tylosine : l'antibiotique inhibe la production de nitrates.



(a)



(b)

Figure 3.30 : Variation des nitrates en fonction du temps dans un réacteur avec 5 mg/l de tylosine (b) et son réacteur témoin (a)

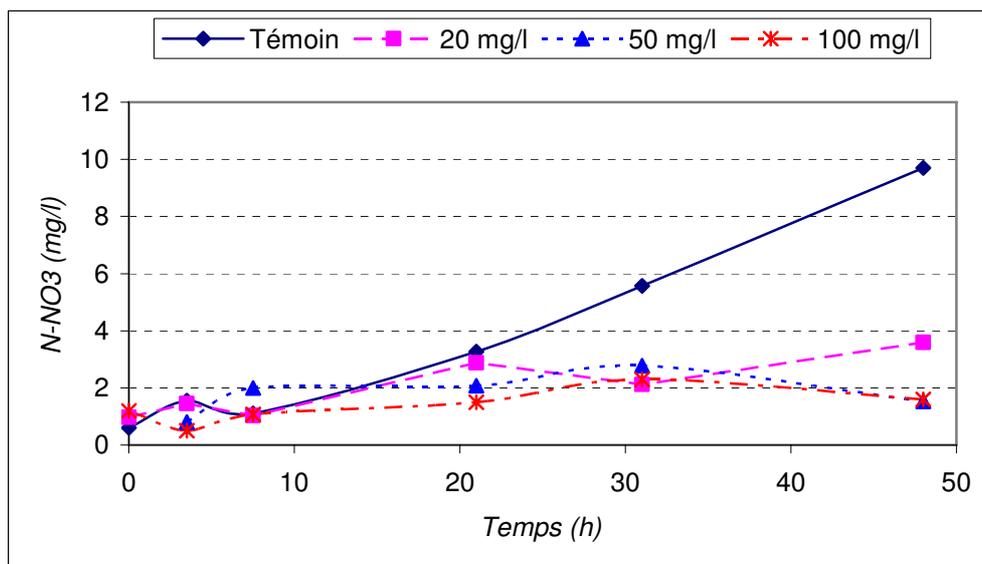


Figure 3.31 : Variation de la concentration en nitrates en présence de différentes concentrations de tylosine

3.2.4 Effet de la tylosine sur les boues

3.2.4.1 Morphologie des floes

En général, l'effet de la tylosine sur les floes est comparable à celui de l'érythromycine. La Figure 3.32 représente le changement de nombre moyen de floes par image dans une manipulation réalisée avec plusieurs concentrations de tylosine. Comme on peut l'observer le nombre de floes dans le réacteur témoin est largement inférieur à celui dans les autres réacteurs.

Une diminution de la surface totale occupée par les floes et de la surface du floe « moyen » est observée dans les réacteurs contenant de la tylosine. La surface du floe « moyen » dans les réacteurs avec antibiotique est inférieure à celle dans le réacteur témoin (Figure 3.33). Les surfaces de floe « moyen » dans les réacteurs témoin utilisés lors de ces deux manipulations sont différentes et reflète une morphologie initiale plus fragmentée dans le cas de l'expérience présentée dans la Figure 3.33a que dans celui de l'expérience présentée dans la Figure 3.33b.

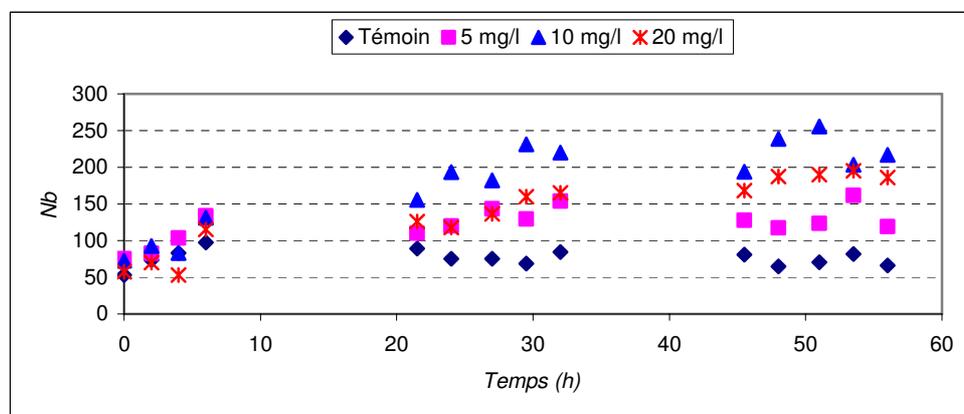
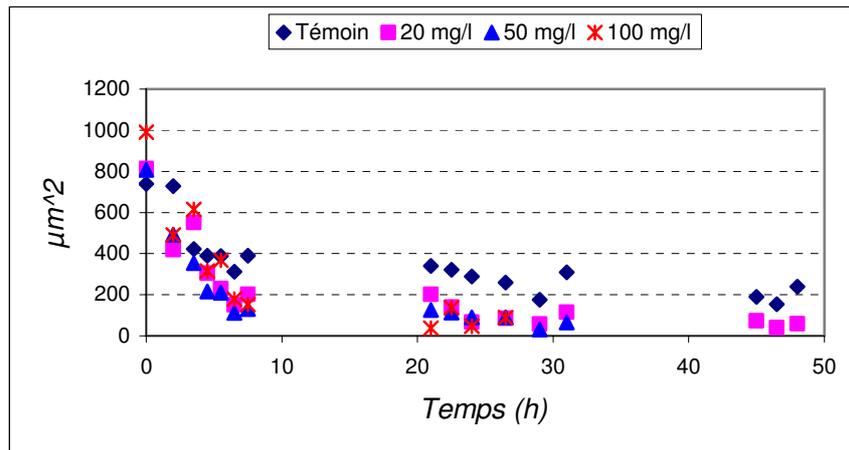
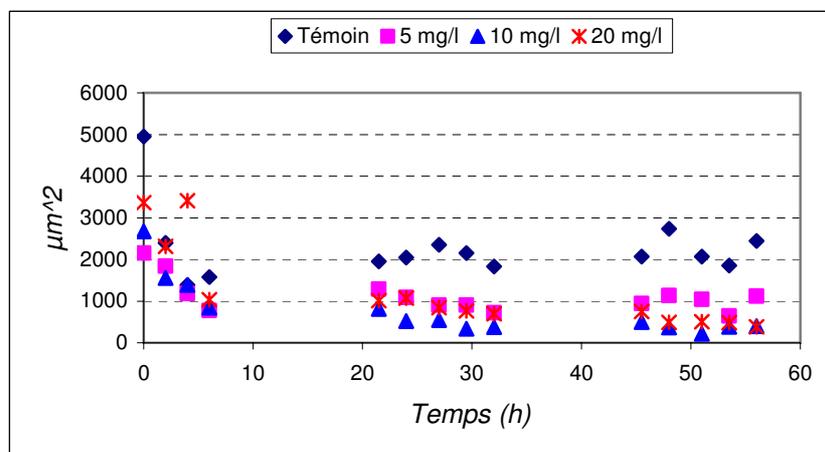


Figure 3.32 : Variation du nombre de floes en fonction du temps pour différentes concentrations en tylosine



(a) 19/04/06-21/04/06

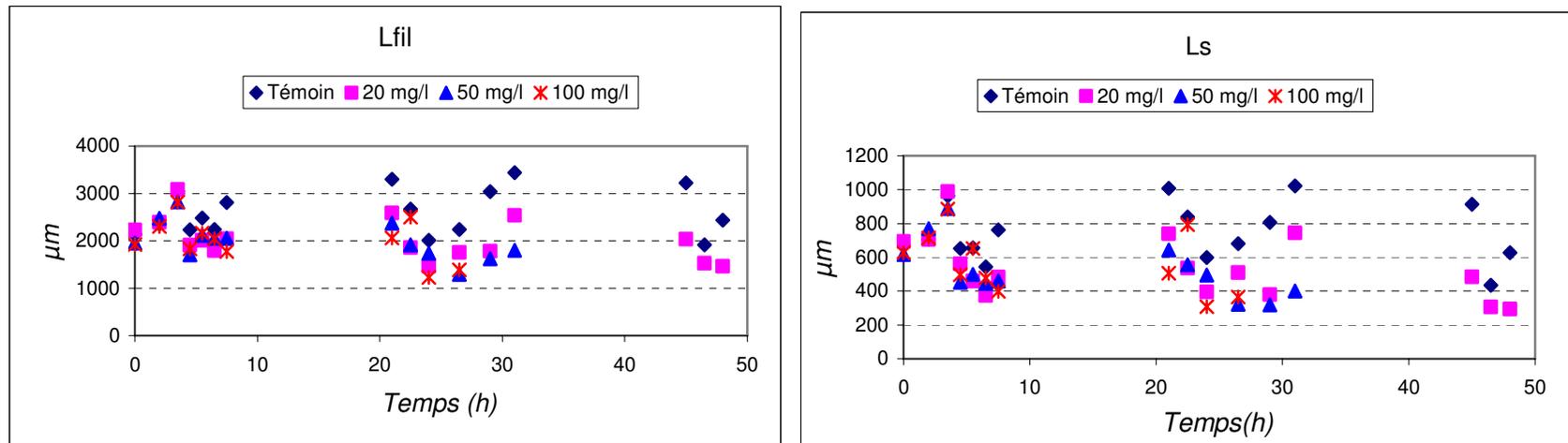


(b) 10/05/06-12/05/06

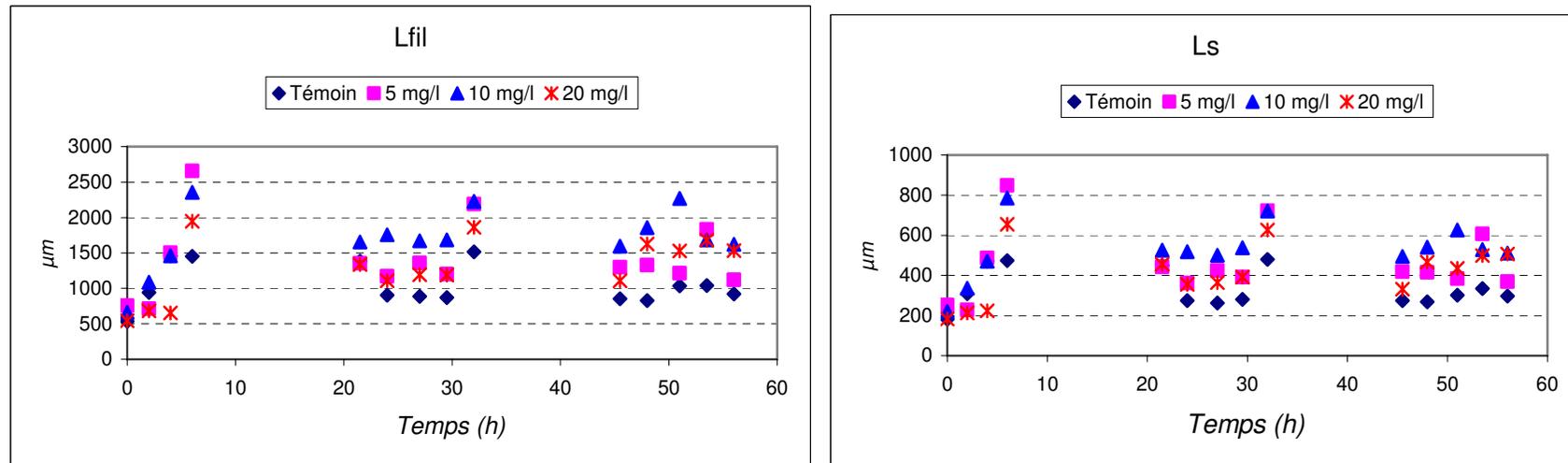
Figure 3.33 : Variation de la surface du floc « moyen » en fonction du temps pour différentes concentrations de tylosine

3.2.4.2 Bactéries filamenteuses

La Figure 3.34 présente les résultats obtenus lors des deux manipulations précédemment citées en ce qui concerne les caractéristiques des bactéries filamenteuses (surface occupée (L_{fil}) et longueur du squelette (L_s)). De façon générale les valeurs obtenues pour les plus faibles concentrations en tylosine semblent plus élevées que celles obtenues dans le réacteur témoin. La tendance inverse est observée pour les plus fortes concentrations en tylosine (supérieure à 20 mg/L). Cependant il faut se souvenir que les boues activées utilisées sont peu « filamenteuses » par nature et qu'une différence notable de morphologie globale a été observée au niveau des floes des réacteurs témoins.



(a) 19/04/06-21/04/06



(b) 10/05/06-12/05/06

Figure 3.34 : Changement de surface de filament et longueur de squelette dans les différents réacteurs en fonction de différentes concentrations de tylos

3.2.5 Caractéristiques Gram

Comme dans le cas de l'érythromycine, la coloration Gram n'a pas permis de mettre en évidence une modification de la répartition Gram⁺/Gram⁻ entre le réacteur témoin et celui avec 20 mg/l de tylosine, qu'il s'agisse de la biomasse totale (Figure 3.35a) ou des bactéries filamenteuses.

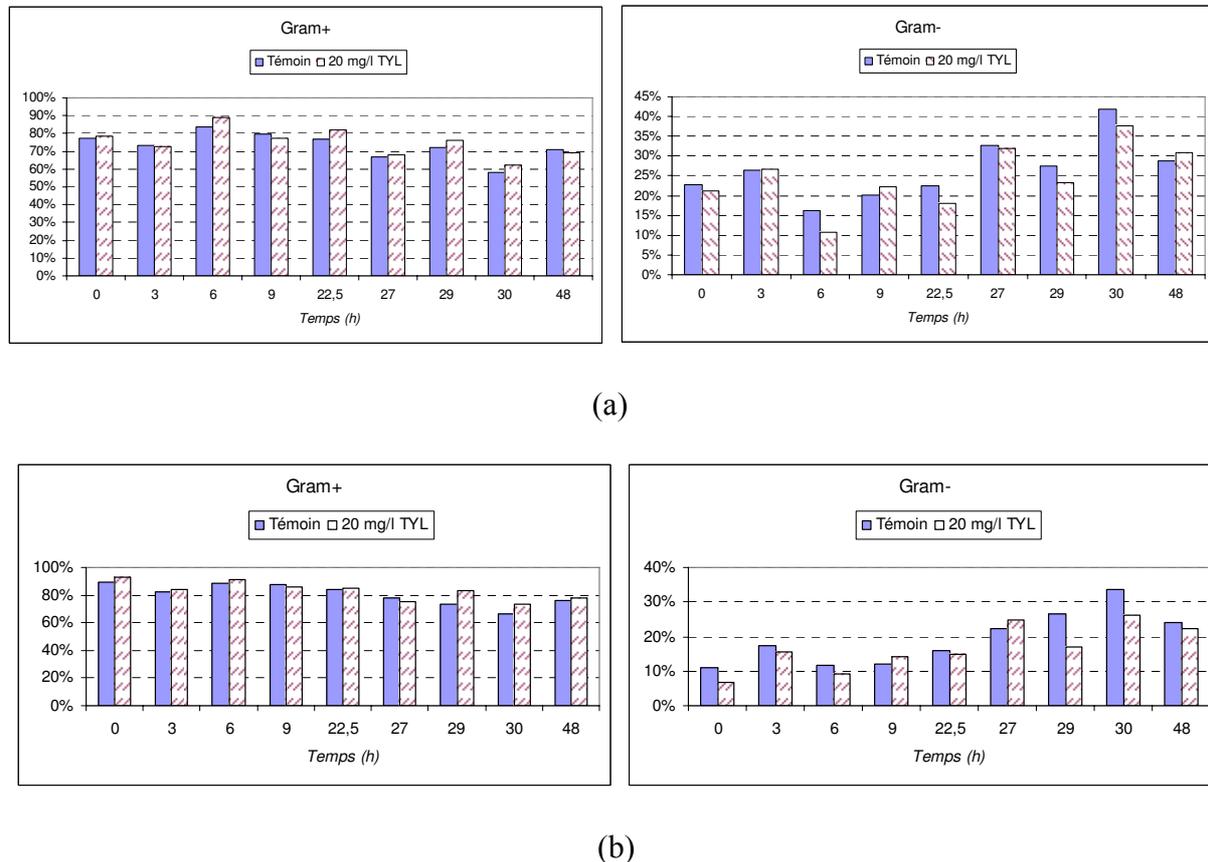


Figure 3.35 : Variation du pourcentage des bactéries Gram⁺ et Gram⁻ en présence de tylosine. (a) biomasse totale (b) bactéries filamenteuses (surface totale occupée)

3.3 Influence de l'origine des boues activées

Toutes les expériences présentées précédemment ont été réalisées avec des boues prélevées à la station de Nancy-Maxéville. La concentration et la qualité des boues dépendent des conditions opératoires appliquées sur l'installation industrielle et peuvent donc varier en fonction du temps. Pour illustrer ce problème les variations des vitesses initiales absolues et spécifiques observées sur les réacteurs témoin en fonction de la date de prélèvement ont été reportées respectivement dans les Figures 3.36 et 3.37. La quantité et l'activité intrinsèque des bactéries nitrifiantes qui sont particulièrement importantes dans cette étude varient en fonction du temps. C'est d'ailleurs pour cette raison qu'un réacteur témoin a été systématiquement utilisé lors de chaque manipulation.

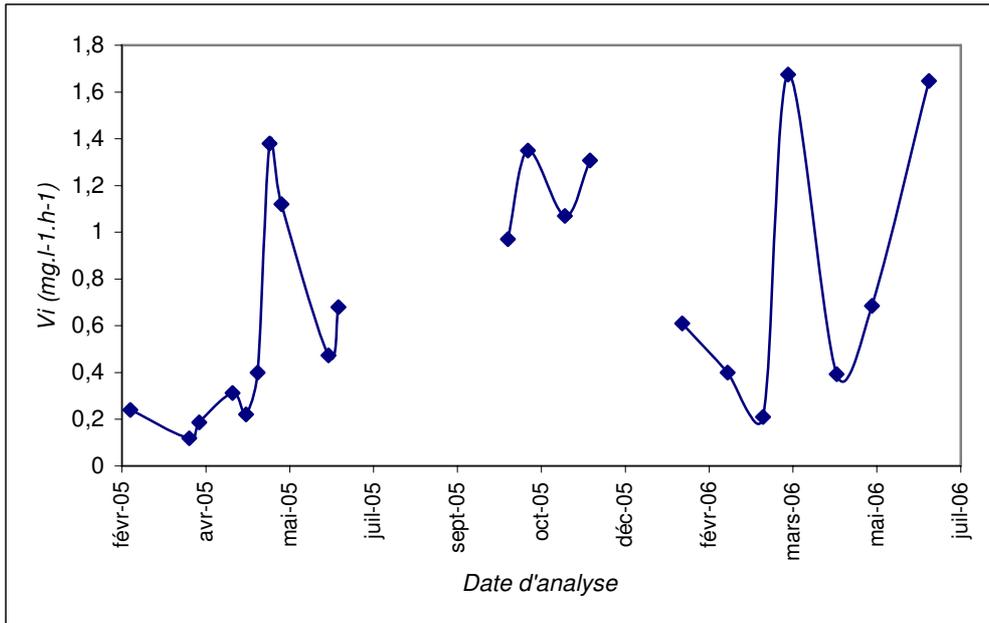


Figure 3.36 : Variation de la vitesse initiale de consommation d’azote ammoniacal du réacteur témoin en fonction de la date de prélèvement (points reliés pour faciliter la lecture)

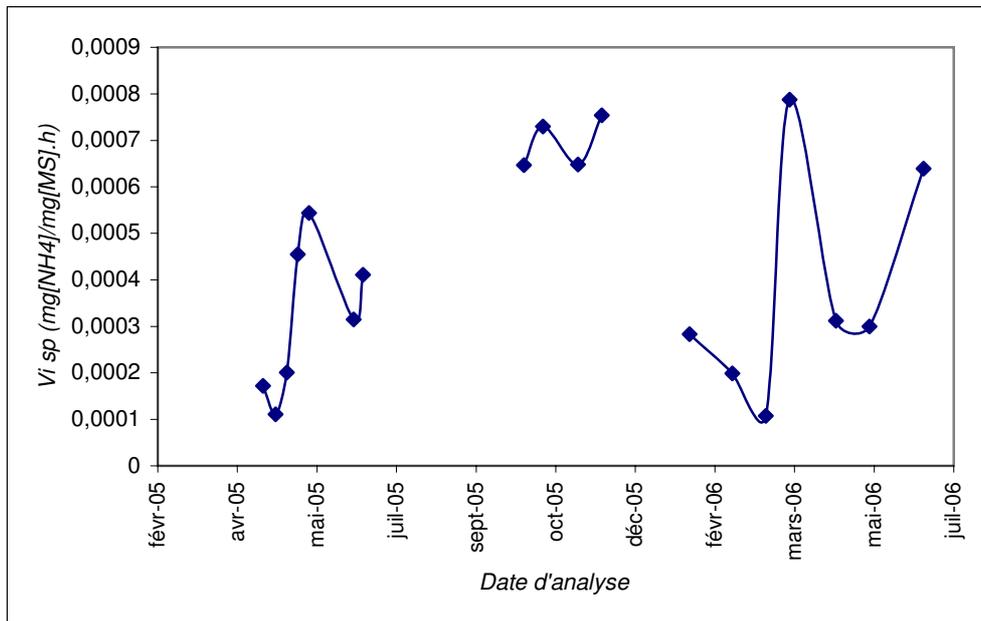


Figure 3.37 : Variation de la vitesse initiale spécifique de consommation d’azote ammoniacal dans le réacteur témoin en fonction de la date de prélèvement (points reliés pour faciliter la lecture)

Les caractéristiques des boues sont aussi fonction du type d'installation sur lesquelles elles sont produites. Pour voir l'effet de ce facteur une manipulation a été effectuée en utilisant des boues prélevées sur la STEP de Pont-à-Mousson, qui fonctionne par alternance de périodes aérées et non aérées (anoxie) et avec précipitation chimique du phosphore à l'aide de chlorure ferrique (ajout dans le réacteur biologique).

3.4 Modification de la structure des floccs par coagulation-floculation

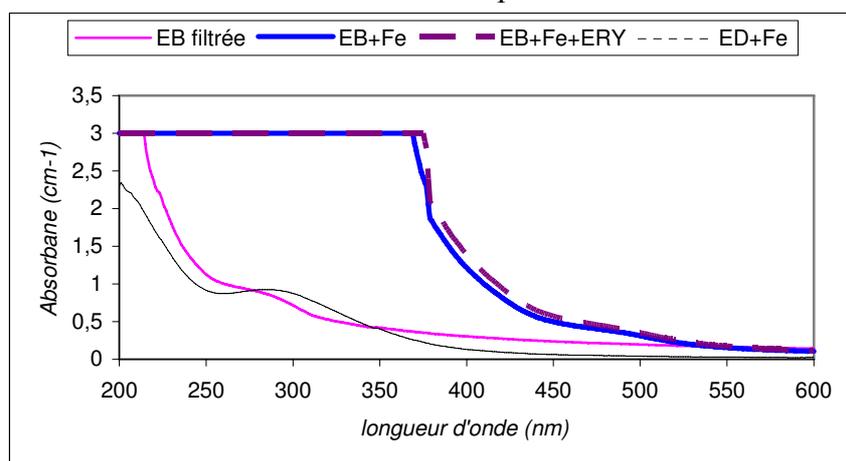
Les agents de précipitation (comme le chlorure ferrique dans le cas du phosphore) ou des agents de coagulation (pour améliorer la décantation en cas d'excès de bactéries filamenteuses) induisent des modifications de la composition des floccs par rapport au cas de simples boues activées comme celles prélevées sur la STEP de Nancy-Maxéville. Même si les résultats obtenus avec les boues de Pont-à-Mousson n'ont pas montré un effet flagrant de la structure induite par un ajout de chlorure ferrique, des essais de modification par coagulation-floculation des floccs ont été entrepris.

Pour cela on a étudié l'effet de l'érythromycine (20 mg/l) en présence de chlorure ferrique (Fe) et d'un coagulant synthétique cationique (C) (cf. chapitre 2, section 2.2.3). Dans une première phase on a recherché le meilleur dosage de chaque substance pour optimiser la décantation par Jar test. Les résultats de ces essais sont présentés en annexe B.

En préalable il faut noter que les méthodes optiques (UV-Visible et fluorescence synchrones) sont perturbées par la présence de chlorure ferrique (Figure 3.38). On ne peut donc pas utiliser la spectroscopie UV-visible pour suivre les évolutions de la DCO soluble ni des nitrates.

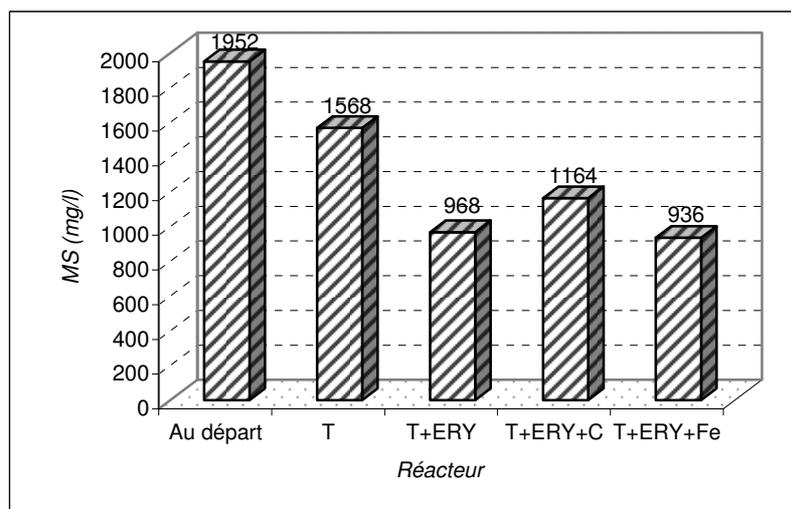
3.4.1 Effet global sur la biomasse

Le chlorure ferrique ne permet pas de mieux conserver la biomasse en suspension en présence d'érythromycine. Par contre le coagulant cationique semble favoris cette suspension (Figure 3.39). Il est en effet possible que les propriétés d'hydrophobicité soient modifiées et que moins de biomasse soit entraînées vers la mousse superficielle.



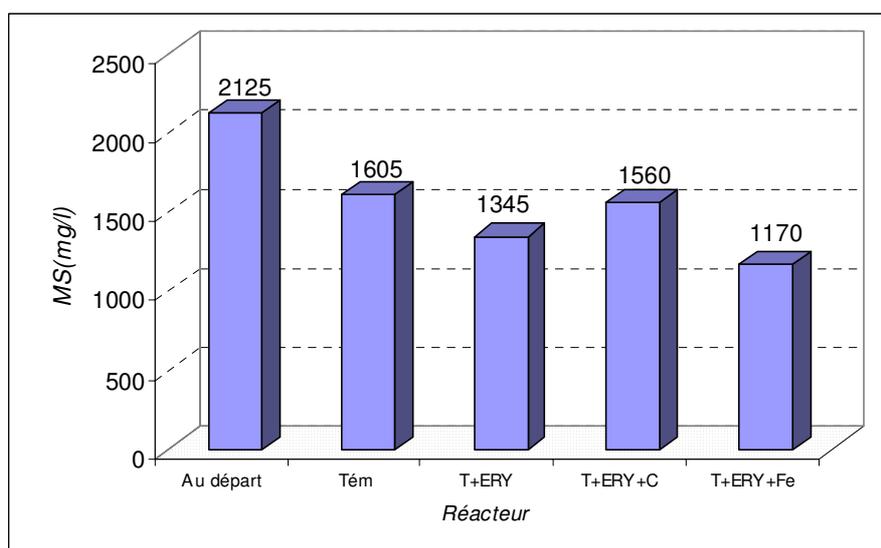
Abréviation : EB = Eau Brute (prélevée à la STEP) ; ED = Eau Distillée

Figure 3.38 : Effet du chlorure ferrique (5 mg/l) sur les spectres d'absorbance UV-Visible



Note: C(ERY) = 20 mg/l ; C(C) = 4 mg/l ; C(Fe) = 0,5 g/l

(a) 06/03/06-09/03/06



Note: C(ERY) = 20 mg/l ; C(C) = 4mg/l ; C(Fe) = 0,33 g/l

(b) 21/03/06-23/03/06

Figure 3.39 : Effet de l'érythromycine sur les MS en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe)

3.4.2 Consommation de l'azote ammoniacal et production des nitrates

Les analyses réalisées montrent que la présence de coagulant ou de chlorure ferrique ne change pas l'effet de l'érythromycine sur la consommation de l'azote ammoniacal. La Figure 3.40 (a) et (b) présente respectivement les résultats obtenus pour l'azote ammoniacal (avec la méthode de Nessler) et pour les nitrates (par HPLC). La consommation d'ammonium reste inhibée. On peut même supposer que la lyse cellulaire produit de l'ammonium. La production de nitrates est elle aussi inhibée de la même façon quel que soit le traitement appliqué.

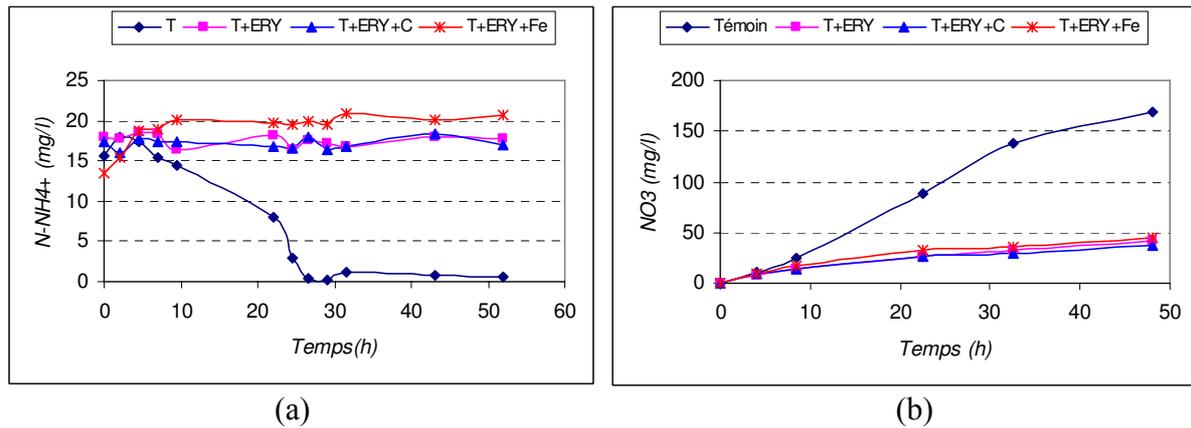
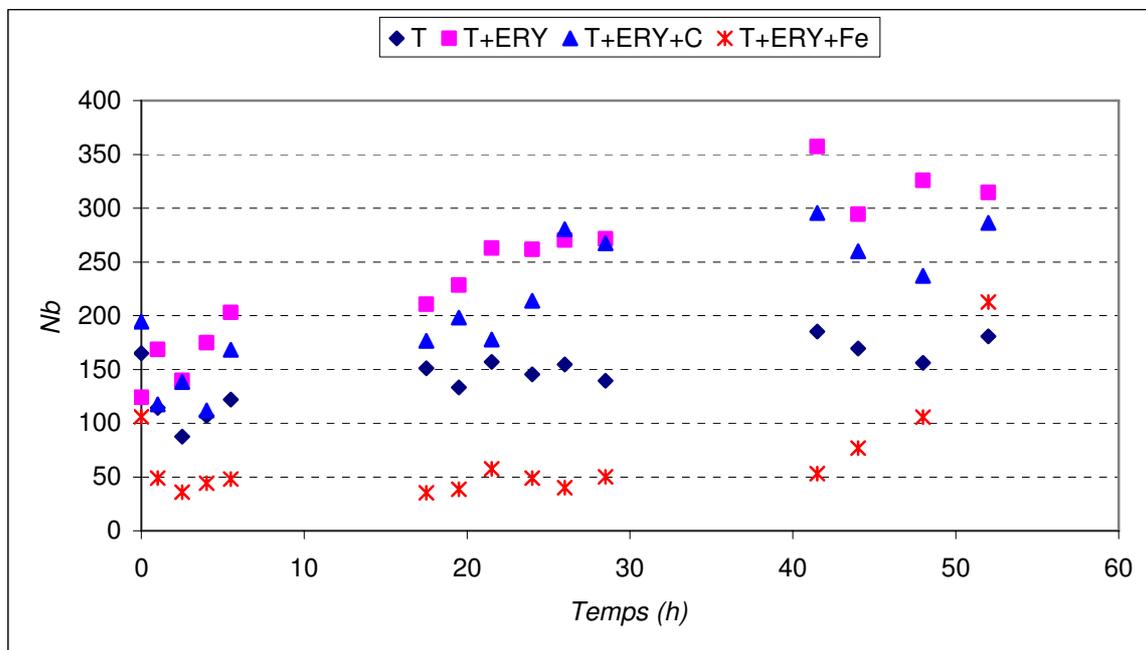


Figure 3.40 : Variations de l'azote ammoniacal (a) et des nitrates (b) en fonction du temps en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe)

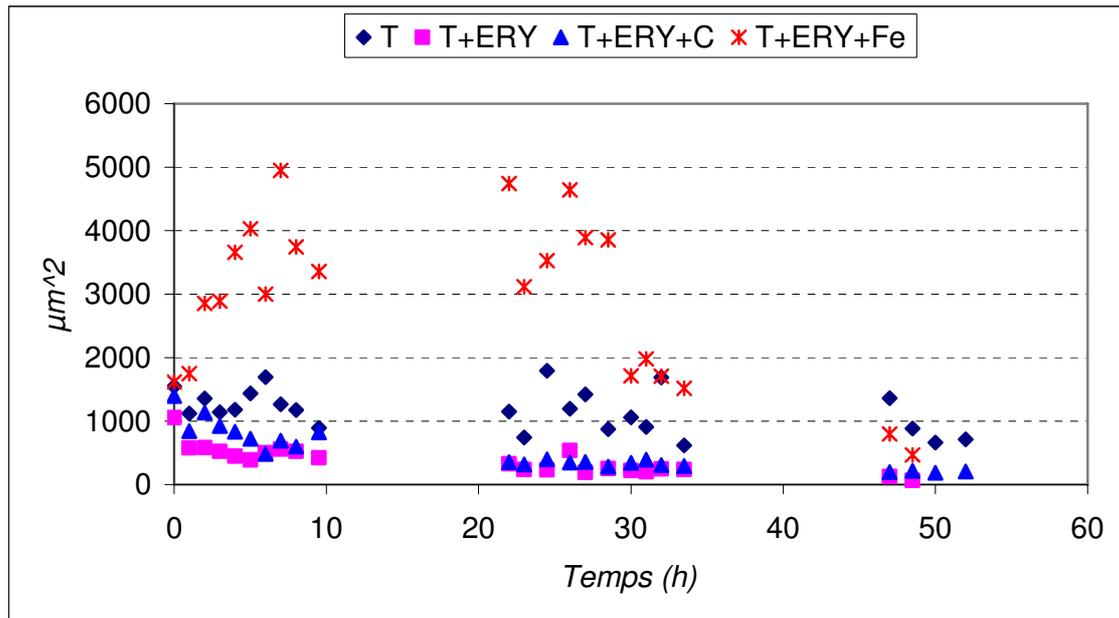
3.4.3 Structure de la biomasse

La présence du coagulant cationique ne compense pas la déstructuration des floes par l'érythromycine : le nombre de floes demeure supérieur à celui observé dans le réacteur témoin (Figure 3.41) et la surface du floe « moyen » est inférieure (Figure 3.42). Par contre dans le cas du chlorure ferrique, une modification importante des floes est observée : ils sont beaucoup moins nombreux et plus gros que dans le réacteur témoin pendant la première partie de l'expérience (premières 48 heures). Ensuite la déstructuration s'opère comme dans les autres réacteurs.



Note: C(ERY) = 20 mg/l ; C(c) = 4 mg/l; C(Fe) = 0.33 g/l

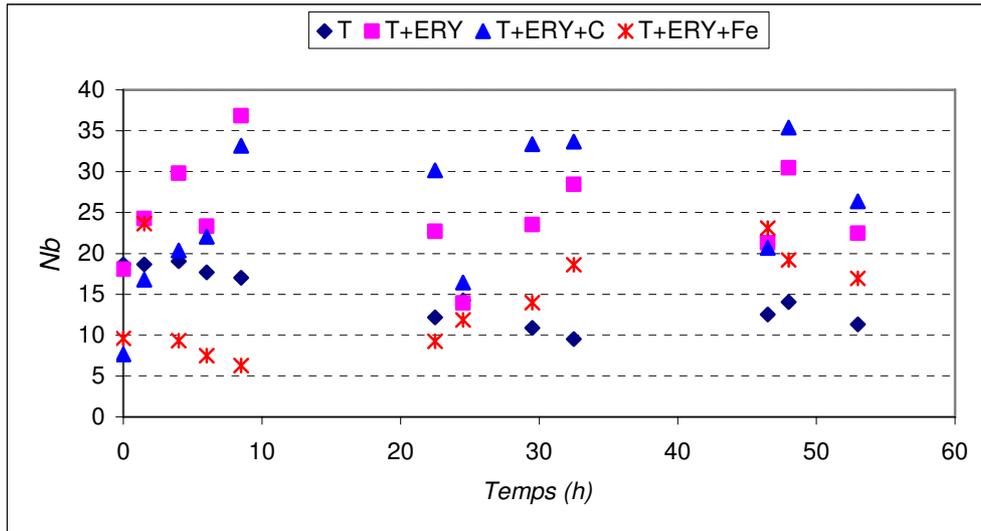
Figure 3.41 : Variation de nombre de floes en fonction du temps en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe)



Note: C(ERY) = 20 mg/l ; C(C) = 4 mg/l ; C(Fe) = 0,5 g/l

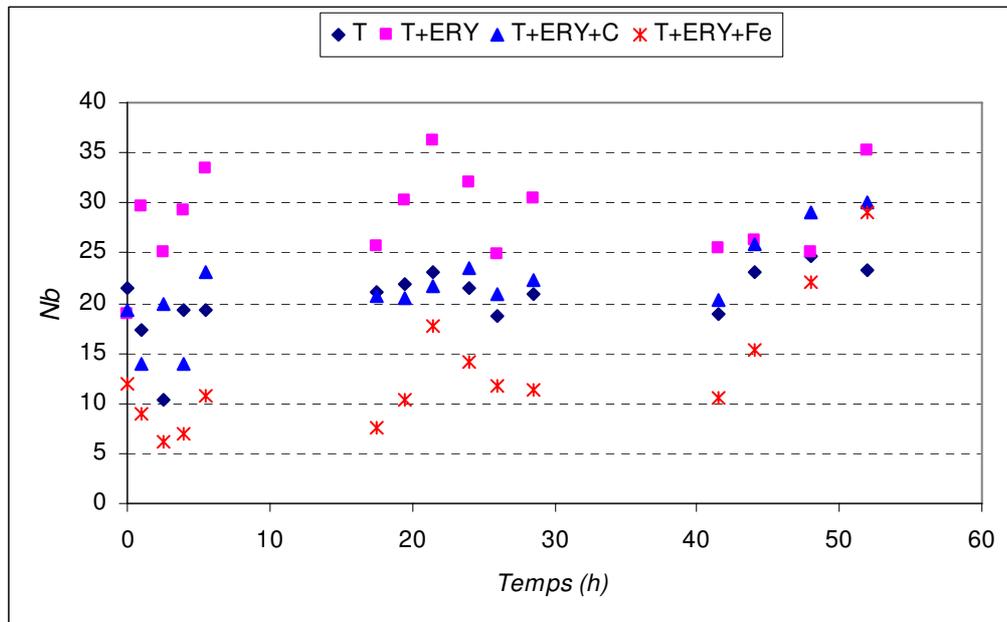
Figure 3.42 : Variation de la surface du floc « moyen » en fonction du temps en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe)

En ce qui concerne les bactéries filamenteuses, les résultats obtenus sont contrastés. La même dose de coagulant cationique ne modifie pas la quantité de bactéries filamenteuses détectées en dehors des floes dans l'expérience « 06/03/06-09/03/06 » (Figure 3.43a et 3.44a). Par contre dans l'expérience 21/03/06-23/03/06 » (Figure 3.43b et 3.44b), le comportement du réacteur avec érythromycine et coagulant cationique se rapproche de celui du réacteur témoin. Dans les deux expériences la quantité de bactéries filamenteuses détectées hors des floes est diminuée en présence de chlorure ferrique par rapport au réacteur avec érythromycine.



Note: C(ERY) = 20 mg/l ; C(C) = 4 mg/l ; C(Fe) = 0,5 g/l

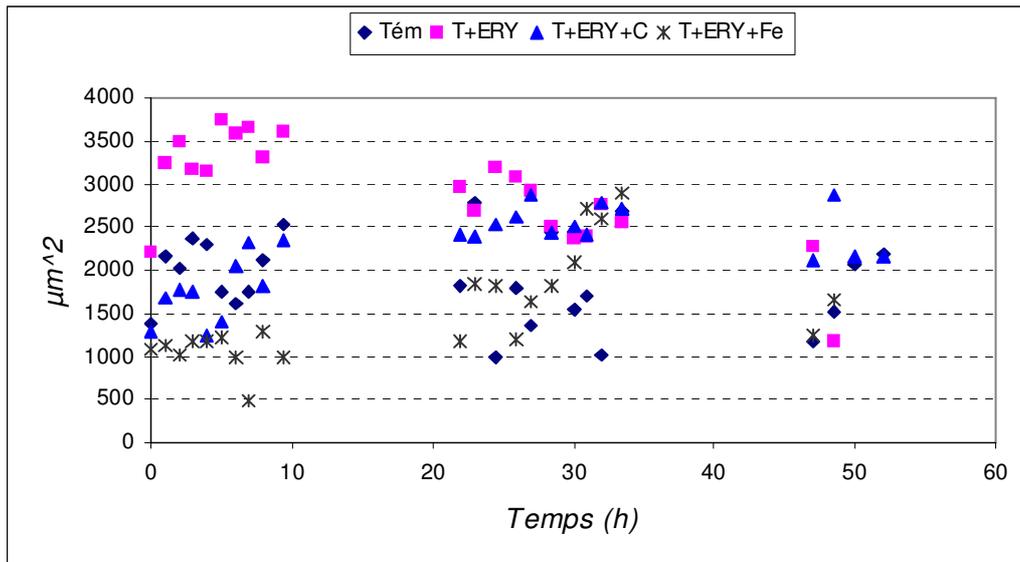
(a) 06/03/06-09/03/06



Note: C(ERY) = 20 mg/l ; C(C) = 4 mg/l ; C(Fe) = 0,33 g/l

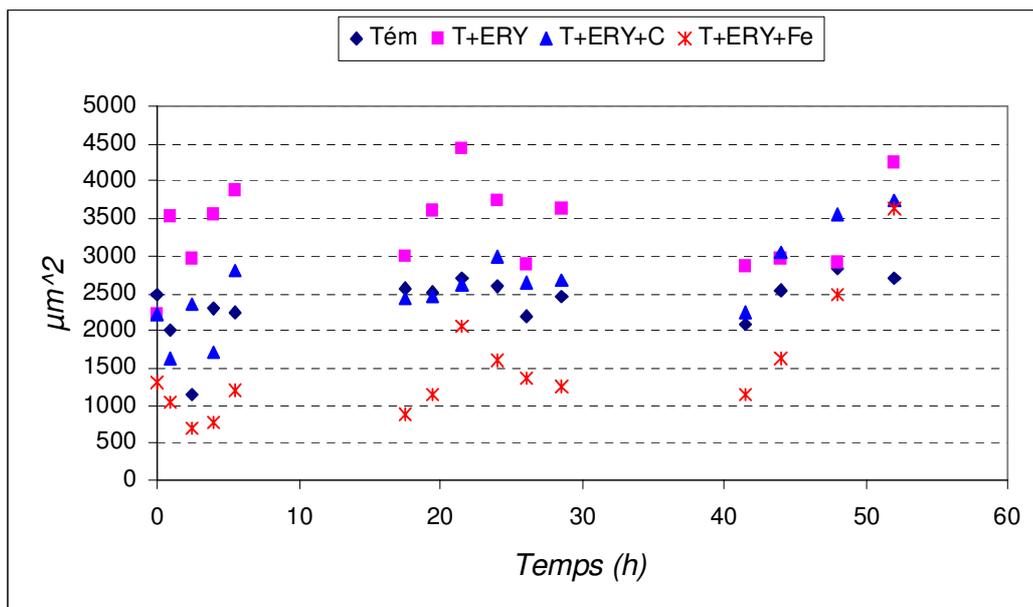
(b) 21/03/06-23/03/06

Figure 3.43 : Variation de nombre de filament en fonction du temps en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe)



Note: C(ERY) = 20 mg/l ; C(C) = 4 mg/l ; C(Fe) = 0,5 g/l

(a) 06/03/06-09/03/06



Note: C(ERY) = 20 mg/l ; C(C) = 4 mg/l ; C(Fe) = 0,33 g/l

(b) 21/03/06-23/03/06

Figure 3.44 : Variation de surface de filament (Lfil) en fonction de temps en présence d'érythromycine et de coagulant cationique (C) ou de chlorure ferrique (Fe)

3.5 Discussion

3.5.1 Action sur les bactéries nitrifiantes

L'ensemble des manipulations réalisées montre que les antibiotiques utilisés inhibent l'activité des bactéries nitrifiantes. On peut résumer les résultats obtenus en présentant la modification de la balance entre production et consommation de l'azote ammoniacal puisque la production de nitrites et de nitrates est directement liée à la consommation d'ammonium. La concentration d'azote ammoniacal 24 heures après le début de la manipulation permet de voir clairement l'effet des antibiotiques macrolides. La Figure 3.45 présente la différence de concentration d'azote ammoniacal entre les instants $t = 0$ et $t = 24h$ pour l'ensemble des expériences effectuées avec l'érythromycine. La Figure 3.46 montre la même concentration pour la tylosine. Dans les deux cas on observe une diminution de la quantité d'azote ammoniacal consommé. Cette figure ne tient évidemment pas compte des différences de quantité de biomasse à l'instant initial. Aux très fortes concentrations en érythromycine, de l'azote ammoniacal est « produit » à la suite de l'importante lyse cellulaire observée.

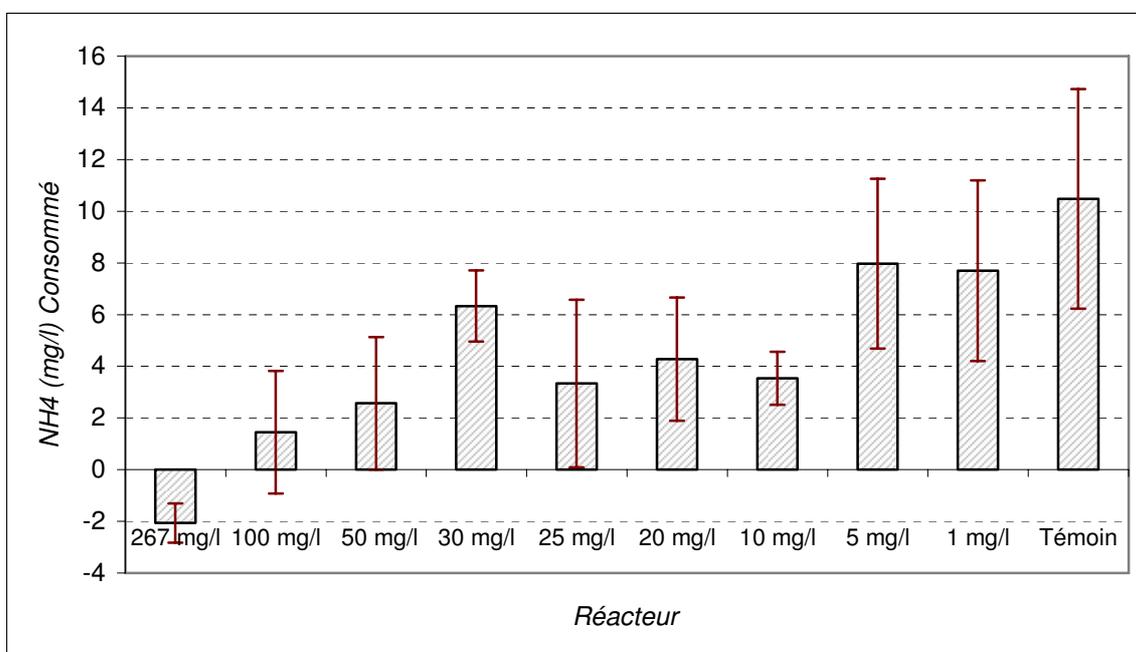


Figure 3.45 : Différence entre les concentrations en azote ammoniacal entre $t = 0h$ et $t = 24h$ pour l'érythromycine

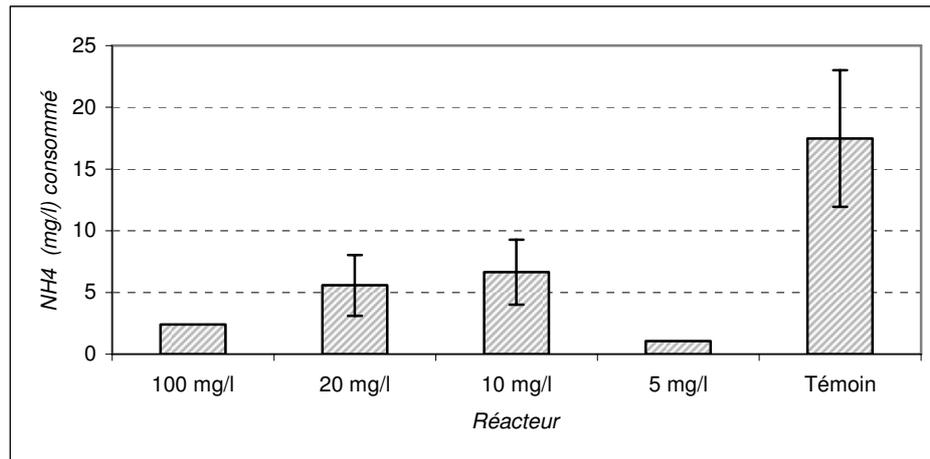


Figure 3.46 : Différence entre les concentrations en azote ammoniacal entre $t = 0h$ et $t = 24h$ pour la tylosine

On a calculé les vitesses initiales de consommation d'azote ammoniacal pour le réacteur témoin et les réacteurs avec érythromycine (Figure 3.47). Une diminution importante de cette vitesse est observée à partir d'une dose supérieure à 1 mg/l d'érythromycine.

En utilisant la valeur de MS on peut calculer une vitesse initiale spécifique de consommation pour chaque réacteur. La Figure 3.48 confirme une valeur seuil entre 1 et 5 mg/l d'érythromycine pour l'apparition d'une inhibition marquée de la consommation d'azote ammoniacal.

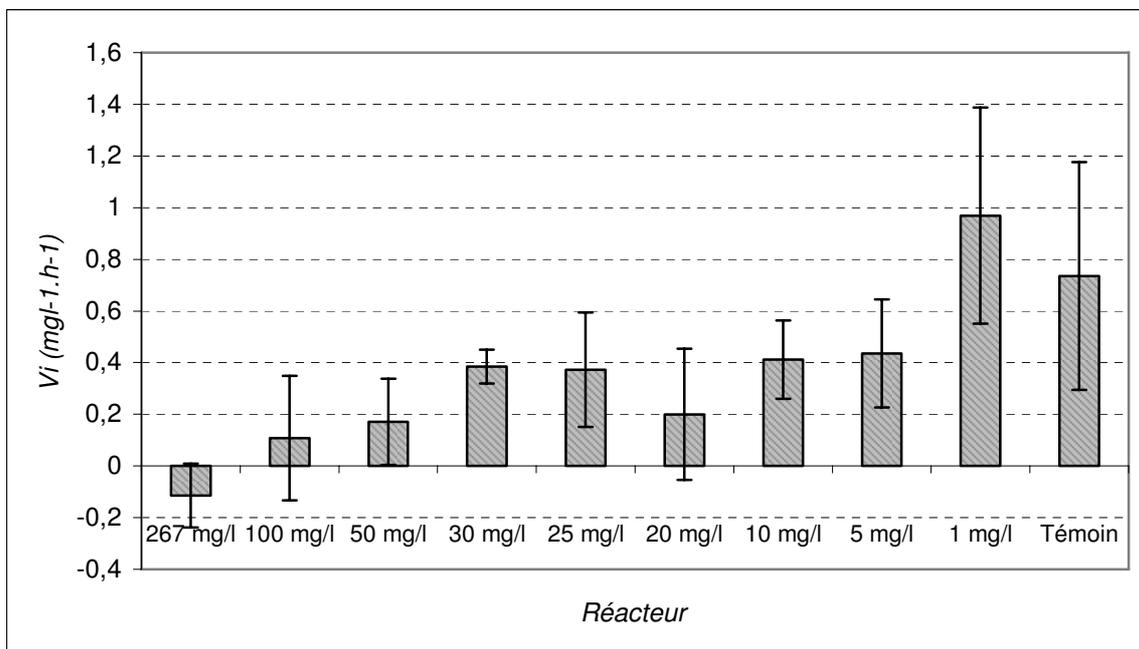


Figure 3.47 : Variation de la vitesse initiale de consommation d'azote ammoniacal dans le réacteur témoin et les réacteurs avec érythromycine

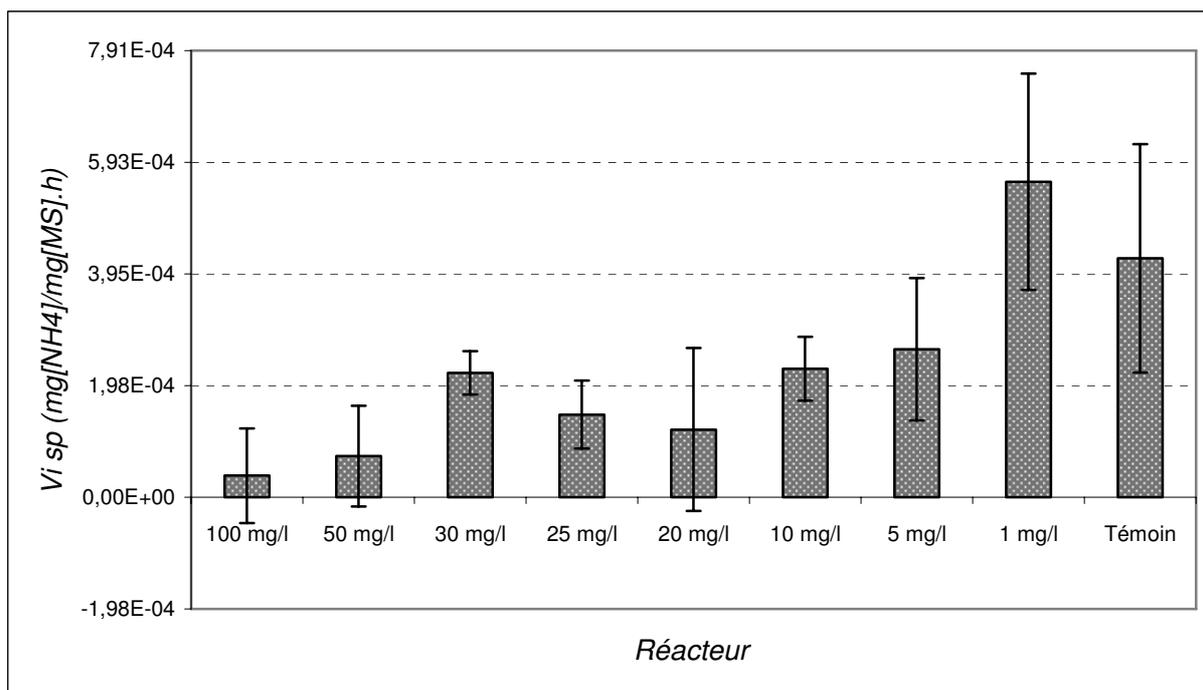


Figure 3.48 : Variation de la vitesse initiale spécifique de consommation d'azote ammoniacal dans le réacteur témoin et les réacteurs avec érythromycine

3.5.2 Schéma global du devenir des composés azotés

La Figure 3.49 illustre le devenir des composés azotés (azote organique, azote ammoniacal, nitrite et nitrate) dans un réacteur sans érythromycine (Figure 3.49a) et dans un réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine (Figure 3.49b). On rappelle que la fluorescence de type « tryptophane » est un indicateur de l'azote organique total (biodégradable et non biodégradable). L'étendue de l'inhibition de l'ammonification, de la nitrification et de la nitrification dépend de la concentration en érythromycine.

- A très faible concentration ($\leq 1,25$ mg/l) on n'observe pas de différence entre le réacteur témoin et un réacteur contenant de l'érythromycine en ce qui concerne le devenir des composés azotés.
- A faible concentration (≈ 5 mg/l), une inhibition de la nitrification est observée mais il est encore possible d'obtenir une consommation complète de l'azote ammoniacal présent initialement en allongeant le temps de contact.
- Plus la concentration augmente, plus l'inhibition est marquée pour toutes les étapes. On n'observe plus de consommation complète pour un temps de contact de trois jours.
- A très fortes concentrations, il se pourrait qu'une lyse cellulaire importante induise une production d'azote organique et d'azote ammoniacal, qui ne sont que très lentement transformés de façon ultime en nitrates.

Il semble que la nitrification soit légèrement plus inhibée que la nitrification puisque l'on observe souvent une accumulation continue de nitrites mais il faudrait confirmer par de nouvelles séries d'expériences. De même des investigations plus poussées pourraient être entreprises au niveau de la nitrification pour déterminer laquelle des deux enzymes (l'ammonium monooxygénase ou l'hydroxylamine oxidoreductase) est la plus inhibée des deux.

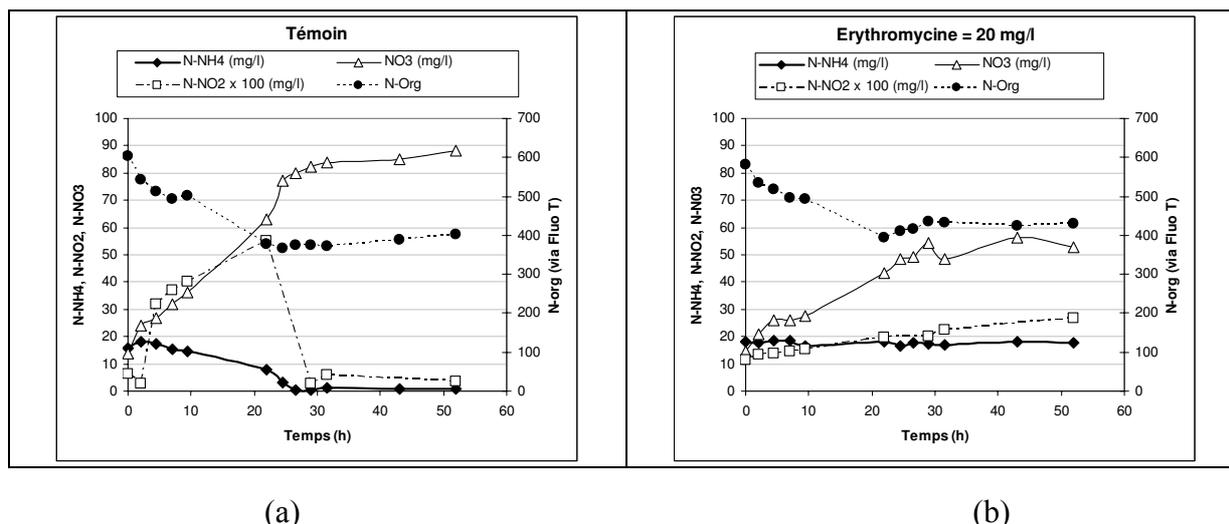


Figure 3.49 : Comparaison de la dynamique des espèces azotées à biomasse équivalente entre un réacteur avec 20 mg/l d'érythromycine (b) et son réacteur témoin (a)

3.5.3 Action sur les bactéries hétérotrophes

Si l'action des antibiotiques sur les bactéries nitrifiantes avait été mentionnée dans la littérature, nous n'avons pas trouvé à ce jour d'informations spécifiques concernant l'action de ces antibiotiques sur les bactéries hétérotrophes des boues activées. Une modification importante de la biomasse a été observée ainsi qu'une inhibition de la dégradation de la pollution carbonée. Ces effets sont de plus en plus importants lorsque la concentration en macrolides augmente. Une fragmentation des floccs se produit, avec une augmentation ponctuelle de l'abondance en bactéries filamenteuses présentes à l'extérieur des floccs. Ces bactéries filamenteuses semblent ensuite disparaître. Il est probable qu'elles se fragmentent à leur tour, jusqu'à devenir des débris qui ne sont plus pris en compte lors du traitement des images. Petit à petit également des mégafloccs (« disques » d'environ 1 cm de diamètre) apparaissent et une grande partie de la biomasse migre vers une mousse qui se forme à la surface de la phase liquide. La formation de cette mousse est facilitée par l'érythromycine (une solution aqueuse d'érythromycine est légèrement moussante), de plus si il y a effectivement lyse des cellules, les protéines ainsi relarguées pourraient aussi avoir une action moussante.

3.5.4 Essai de protection des bactéries par modification de la structure des floccs

Quelques essais de modification de la structure des floccs ont été entrepris afin de voir s'il était possible de protéger les bactéries de l'action de l'antibiotique. Ni l'ajout d'un coagulant cationique (qui permet normalement de limiter l'abondance des bactéries filamenteuses s'étendant hors des floccs) ni celui de chlorure ferrique (précipitation du phosphore) n'ont permis d'améliorer la performance des bactéries nitrifiantes en présence d'érythromycine. Le coagulant cationique permet de maintenir un peu mieux la biomasse bactérienne en suspension et le chlorure ferrique modifie la structure du flocc. Il faut cependant noter que le chlorure ferrique a été ajouté à des boues activées non acclimatées à ce type de traitement et il n'est pas sûr que le temps de mise en contact (avant l'ajout de l'antibiotique) ait été optimal. On peut cependant remarquer que les boues activées de Pont-à-Mousson qui sont acclimatées au chlorure ferrique n'ont pas montré une résistance particulière à l'érythromycine.

3.5.5 Sensibilité des bactéries des boues activées aux macrolides

Selon la littérature les bactéries nitrifiantes les plus communes sont de type Gram⁻ (cf. chapitre 1, section 1.2.3.1). Cependant Uma et Sandahya (1997) ont isolé dans le sol une bactérie Gram⁺ capable de dégrader la pyridine et identifiée comme *Bacillus coagulans*. Burrell et al. (1998) ont détecté un pourcentage important de bactéries Gram⁺ (telles que *Rhodococcus sp.*) dans la biomasse microbienne d'un réacteur de type séquentiel discontinu. Comme on en a discuté dans la section 1.3.5.4, quelques travaux ont montré l'effet d'antibiotiques (mais pas précisément de type macrolide) sur la nitrification (Gomez et al., 1997 ; Campos et al., 2001 ; Carucci et al., 2006).

De manière générale l'érythromycine et la tylosine sont des antibiotiques destinés à combattre des bactéries Gram⁺ (cf. chapitre 1, sections 1.3.5.1 et 1.3.5.2). Elles peuvent cependant agir sur des bactéries de type Gram⁻. Comme on en a discuté dans le chapitre 1 (cf. §§ 1.3.5.3), l'érythromycine peut inhiber des bactéries telles que *Haemophilus*, *Mycoplasma*, *Chlamydia* (Neu et al, 2001), *Bordetella pertussis* et *Legionella pneumophila*. De faibles doses d'érythromycine répriment chez *P. aeruginosa* la production de lectines et de facteurs de virulence (Sofer et al., 1999). De même, la tylosine est utilisée contre les bactéries Gram⁺ et Gram⁻ (Biocon, 2003). Cependant ces macrolides n'ont pas été conçus pour lutter contre les bactéries usuellement présentes dans les boues activées.

Il apparaît donc que les limites ne sont pas dans la pratique aussi claires que l'on pourrait le penser de prime abord : des bactéries nitrifiantes de type Gram⁺ peuvent exister et les antibiotiques comme l'érythromycine et la tylosine peuvent avoir une action sur des bactéries de type Gram⁻.

Le mode d'action principal des antibiotiques de type macrolide comme l'érythromycine et la tylosine consiste en une inhibition de la synthèse protéinique par action sur le rRNA 23S de la sous-unité 50S ribosomale. Cependant selon des travaux récents (cf. §§ 1.3.5.3) un autre mode a été avancé pour les bactéries de type Gram⁻ : l'effet sur le quorum sensing (Tateda et al, 2004). On peut également noter que les enzymes impliquées dans la nitritation (AMO et HAO) et dans la nitratisation (NOR) (Klotz et al., 1998 ; Phillips et al., 2002) sont liées à la membrane cellulaire et qu'une altération de la membrane peut donc affecter ces étapes.

Les résultats de la coloration Gram combinés à ceux de l'évolution globale de l'abondance en bactéries filamenteuses ne se sont pas montrés concluants vis-à-vis de la destruction plus particulière d'un type de bactéries (Gram⁺ ou Gram⁻). L'idée qui nous avait guidé peut être illustrée dans la Figure 3.50 :

- on part de flocs avec des bactéries filamenteuses protubérantes principalement de type Gram⁺
- sous l'action de l'érythromycine les bactéries filamenteuses de type Gram⁺ voient leur perméabilité de membrane accrue par exposition à l'érythromycine et apparaissent comme Gram⁻
- ou, la plupart des bactéries filamenteuses protubérantes de type Gram⁺ est détruite par l'érythromycine

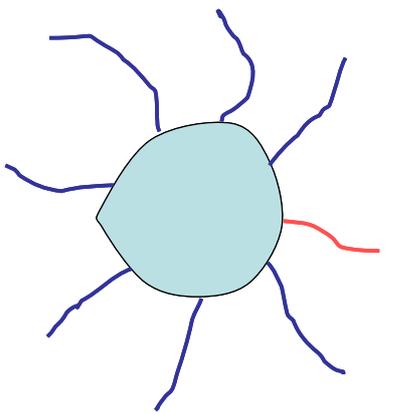
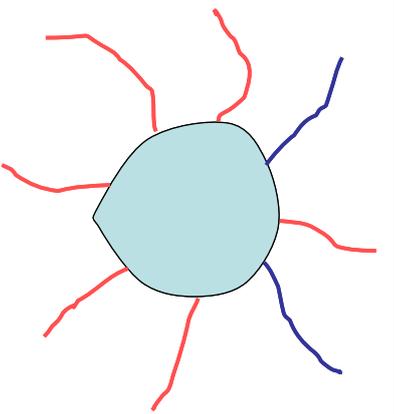
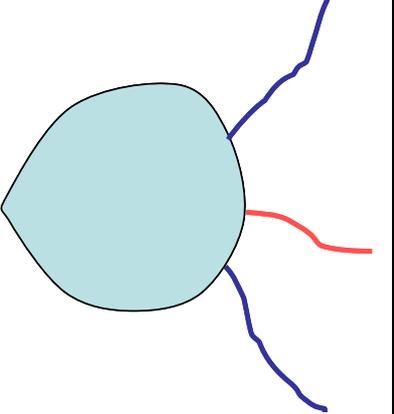
(a)	(b)	(c)
		
Floc avec des bactéries filamenteuses protubérantes principalement de type Gram ⁺	Floc avec des bactéries filamenteuses protubérantes principalement de type Gram ⁺ dont certaines ont une perméabilité de membrane accrue par exposition à l'érythromycine et apparaissent comme Gram ⁻	Floc avec des bactéries filamenteuses protubérantes principalement de type Gram ⁺ dont la plupart ont été détruites par l'érythromycine

Figure 3.50 : Possibilité de visualisation de l'attaque par l'érythromycine de bactéries filamenteuses protubérantes de type Gram⁺ (bleu = Gram⁺, rose = Gram⁻)

Ces scénarios peuvent être erronés mais il serait nécessaire de refaire des expériences avec des boues activées très filamenteuses (par exemple prélevées sur une station en état de bulking filamenteux) car celles utilisées étaient plutôt semblables à celles illustrées sur la Figure 3.51b.

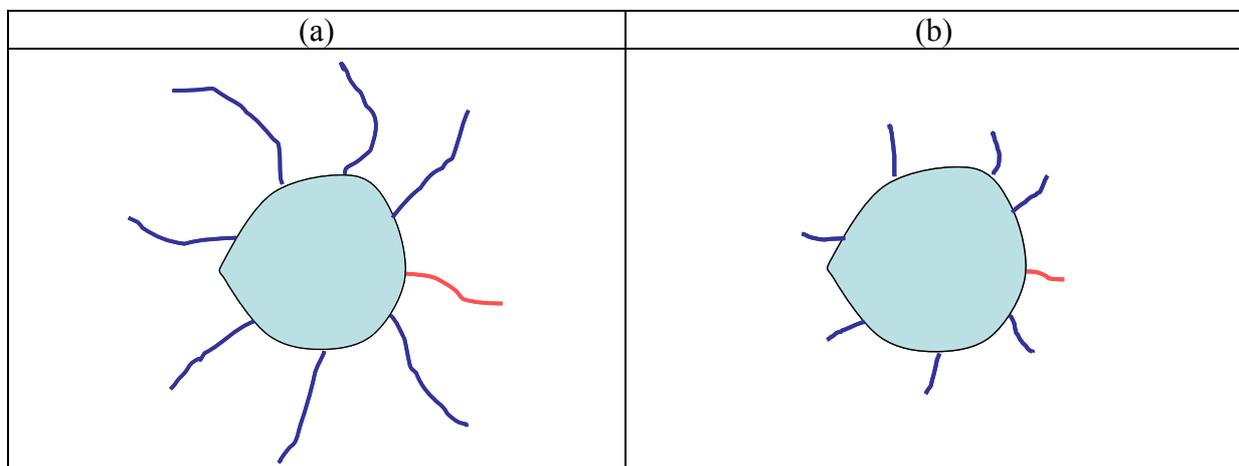


Figure 3. 51 : Représentation schématique de flocs avec de longues (a) ou de courtes (b) bactéries filamenteuses protubérantes (bleu = Gram⁺, rose = Gram⁻).

Dans l'ensemble des manipulations réalisées en présence d'érythromycine et de tylosine, nous avons vu une diminution importante de la quantité de biomasse en suspension et de la surface moyenne occupée par des flocs (cf. §§ 3.1.4.1 et §§ 3.2.4.1). Ces deux macrolides ont donc une action non seulement sur les bactéries nitrifiantes mais aussi sur l'ensemble des bactéries hétérotrophes. Une attaque des bactéries filamenteuses hétérotrophes qui assurent le squelette du floc ne peut que contribuer à la désintégration de celui-ci. L'importance et la rapidité de la

destruction de la biomasse dépendent de la concentration en macrolide. La diffusion de l'antibiotique à l'intérieur du floc apparaît comme un phénomène à étudier. Les polymères extracellulaires (EPS) synthétisés par les bactéries et qui en assurent la cohésion dans le floc (Wingender et al, 1999) ont vraisemblablement une grande importance. Ces exopolymères sont en effet susceptibles de protéger des bactéries (Lewis, 2001 ; Anguige et al., 2006) ou des liposomes (Cócera et al., 2000). Il est vrai que des antibiotiques de type macrolide agissent négativement sur la formation de biofilm bactérien (clarithromycine sur *Mycobacterium avium* (Carter et al., 2004) et sur *Pseudomonas aeruginosa* (Yasuda et al., 1993)). Cependant la vitesse d'action observée est peu compatible avec la vitesse de synthèse de macromolécules par des bactéries.

Pour examiner de façon plus approfondie le rôle des exopolymères, il conviendrait de réaliser des expériences avec d'autres types de boues : la nature des EPS dépend de la station d'épuration (composition de l'eau usée, mode de fonctionnement, etc.) (Garnier et al., 2005).

Conclusion Générale & Perspectives

*"La seule chose que j'ai comprise
est que je ne sais rien"*

SOCRATES

L'un des deux objectifs de cette étude était de faire le point des connaissances sur certains polluants « secondaires » dans les stations d'épuration des eaux usées urbaines. Parmi ceux-ci, les composés pharmaceutiques occupent une place importante, car ils ont des effets reconnus sur l'environnement aquatique et peut-être sur l'être humain par le biais de la consommation d'eau. Parmi les différents groupes de médicaments, nous nous sommes intéressés aux antibiotiques et notamment aux antibiotiques de type macrolide.

Le second objectif était d'examiner expérimentalement l'effet d'antibiotiques de type macrolide dans les procédés de traitement des eaux usées par boues activées. Nous avons observé que l'érythromycine et la tylosine interfèrent avec le processus de nitrification mais également inhibent l'élimination de la pollution organique et dégradent l'ensemble de la biomasse.

La présence des composés pharmaceutiques dans les STEP

La quantité de composés pharmaceutiques dans les STEP est directement liée à la quantité de médicaments vendue ou consommée. D'autre part l'étude des données montre que les médicaments les plus consommés sont les analgésiques (comme le paracétamol), les anti-inflammatoires (comme l'acide acétylsalicylique) et les antibiotiques (par exemple la pénicilline).

Les analgésiques/anti-inflammatoires (paracétamol, ibuprofène, diclofénac...), les anti-cholestérols (bézafibrate, acide clofibrique, gemfibrozil...), les cytostatiques (cyclophosphamide, ifosfamide...) et les bêta-bloquants (énalapril, métoprolol...) présentent les concentrations les plus élevées en entrée de STEP. On a pu noter que malgré des rendements d'élimination quelquefois très élevés, les concentrations de ces groupes dans les effluents des STEP restent non négligeables.

En ce qui concerne les hormones, qui interfère avec les caractéristiques sexuelles des poissons même en faible concentration, la synthèse des données montre que certaines d'entre elles comme E3 et E2 sont en fortes concentrations (environ 100 ng/l) dans les effluents de STEP. Certaines hormones (E2, EE2, E3, E1) sont cependant éliminées avec des rendements importants (75 à 99 %) alors que d'autres ne le sont pas du tout (E1-G, E2-G, E3-G).

Un autre groupe remarquable est celui des AOX et des radio-contrastants qui sont majoritairement non biodégradables et non métabolisables. Ces composés sont cancérigènes et ont été détectés dans l'eau potable.

Les antibiotiques de type macrolide

Les antibiotiques constituent un sujet de préoccupation important :

- ils sont consommés en grande quantité (cf. §§ 1.3.3.1),
- ils sont détectés dans les effluents de STEP, l'eau de surface et l'eau souterraine en faible concentration (cf. §§ 1.3.4.3 et 1.3.5),
- ils ont une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les micro-organismes et ils ont un potentiel d'action important sur les procédés de traitement biologique des eaux usées qui mettent en œuvre des bactéries.

La charge en antibiotiques est faible dans les eaux usées urbaines et forte dans les effluents des hôpitaux. Les rendements d'élimination sont très variables, de 95% pour la tétracycline à 0% pour le nitrothiazole.

Les antibiotiques de type macrolide sont un sous-groupe important d'antibiotiques. Ils sont consommés en grande quantité en médecine humaine et vétérinaire (cf. §§ 1.3.5). L'estimation réalisée par Isidori et al, (2005) montre que la toxicité chronique (MEC/PNEC) de trois antibiotiques de type macrolide ou ayant des propriétés semblables (dont l'érythromycine, la lincomycine et la clarithromycine) atteint la valeur de 1 et que cette classe d'antibiotique est la plus toxique pour l'environnement. Les antibiotiques de types macrolide ont été détectés dans plusieurs STEP dans les pays européens même après traitement tertiaire.

L'effet de l'érythromycine et de la tylosine sur les procédés de traitement par boues activées

On a étudié l'effet de l'érythromycine et de la tylosine sur des boues activées prélevées sur des stations de traitement des eaux usées urbaines. Les résultats obtenus montrent que les antibiotiques ont une action globale sur la biomasse (lyse cellulaire) et une inhibition sur la dégradation des substrats carbonés et azotés :

- 1. une diminution de la biomasse totale (hétérotrophe et nitrifiante) a été observée, avec une fragmentation des floccs « normaux » qui entraîne une apparition temporaire de bactéries filamenteuses en suspension, suivie de la formation de gros floccs noirâtres, une migration de la biomasse vers une mousse surnageante.**
2. on n'a pas pu être tirer de conclusions définitives à partir de la coloration Gram quant à la destruction préférentielle d'un type Gram ou la modification de l'état de la membrane des bactéries de type Gram⁺.
3. une inhibition de la consommation de DCO soluble a été notée.
- 4. les deux antibiotiques utilisés ont un effet inhibiteur sur la consommation d'azote ammoniacal et la transformation de celui-ci en nitrites.**
- 5. la nitratisation (transformation de nitrite en nitrate) est également inhibée.**
6. l'ammonification est elle aussi inhibée
7. cependant, suite à la lyse cellulaire observée, une production d'azote organique et d'azote ammoniacal a été observée

De façon générale, lorsque la concentration d'antibiotique augmente, l'inhibition des processus augmente.

Perspectives

L'étude des composés pharmaceutiques dans les STEP est assez récente. Les perspectives ouvertes par ce travail sont de plusieurs ordres :

- Tout d'abord, l'étude des effets des antibiotiques étudiés sur d'autres procédés de traitement des eaux usées (systèmes à biofilm ou hybride, lagunage) et d'autres processus (déphosphatation biologique, digestion anaérobie des boues en excès) peut être envisagée.
- Des améliorations peuvent être apportées à certaines méthodes appliquées dans ce travail. Ainsi avec la coloration Gram, on n'a pas observé de différence significative entre le comportement des bactéries Gram⁺ et Gram⁻. Des essais complémentaires avec cette coloration ainsi qu'avec la coloration BacLight (test de viabilité basée sur la visualisation de l'endommagement de la membrane cellulaire) devront être effectués. Des essais de localisation de certains exopolymères par microscopie confocale avec des lectines conjuguées pourraient être aussi envisagés.
- Les caractéristiques des boues activées varient en fonction de la STEP et en fonction du temps pour une STEP donnée. Des essais sur des boues activées provenant d'autres installations avec des conditions opératoires différentes (comme le bulking filamenteux) devraient être poursuivis.
- Il serait intéressant d'affiner le travail pour des concentrations d'antibiotique inférieures à celles entraînant une forte lyse cellulaire (environ 20 mg/l) tout en conservant des durées d'expérience maximales de 3 jours.
- Il serait également intéressant de pouvoir doser l'antibiotique afin de suivre son devenir (part de dégradation, d'absorption sur les boues, etc.).
- On peut également envisager l'extension à d'autres antibiotiques de type macrolide comme la clarithromycine (qui a un effet particulier sur les bactéries Gram⁻). D'autres antibiotiques encore pourraient être testés, par exemple en fonction de leur consommation : la tétracycline qui présente une consommation assez remarquable dans plusieurs pays pourrait faire partie des candidats. Cela permettrait d'avoir une vision plus globale concernant l'effet des antibiotiques sur les processus bactériens mis en jeu dans les procédés biologiques de traitement des eaux usées.

Références bibliographiques

Remarque : les références utilisées dans la base de données sont précédées d'une étoile.

***Adler P., Steger-Hartmann Th., Kalbfus W.** (2001); "*Vorkommen natürlicher und synthetischer östrogenen Steroide in Wässern des süd- und mitteldeutschen Raumes. [Distribution of natural and synthetic estrogenic steroid hormones in water samples from southern and middle Germany]*"; Acta Hydrochim. Hydrobiol. , 29, 227–241.

***Al-Ahmad A., Daschner F.D. , Kümmerer K.** (1999); "*Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G, and sulfametohoxazole and inhibition of wastewater bacteria*", Arch. Environ. Contam. Toxicol. , 37, 158–163.

***Alexy R., A. Schöll, F.T. Lange, T. Knacker, Gartiser S., Beimfohr C, Theis W., Kümmerer K.** (2004); "*Risks by antibiotics in the aquatic environment*", Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 294.

***Alexy R., lange F.T., Schöll A., Metzinger M., Wenz M., Kümmerer K.** (2004); "*Occurrence of antibiotics in influent, effluent, activated sludge and surplus sludge in three municipal sewage treatment plants (STP), south-west Germany*" , Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 290.

***Alonso-Núñez C.** (2004); "*Analytical study of the organic pollutants detected in a batch of domestic sewage samples by means of SPME/GC-MS*", Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 132.

Amin A. S., Issa Y. M. (1996); "*Selective spectrophotometric method for the determination of erythromycin and its esters in pharmaceutical formulation using gentiana violet*", Journal of Pharmaceutical and biomedical Analysis, 14, 1625-1629.

***Andersen H., Siegrist H., Halling-Sørensen B., Tenres T.H.** (2003); "*Fate of Estrogens in a Municipal Sewage Treatment Plant*", Environmental Science and Technology, Vol. 37, No. 18, 4021-4026.

Anguige K., King J.R. , Ward J.P. (2006); "*A multi-phase mathematical model of quorum sensing in a maturing Pseudomonas aeruginosa biofilm*", Mathematical Biosciences, 203, 240 –276.

Baker A. (2002); "*Fluorescence of some farm wastes: implication of water quality monitoring*", Water researches, 36, 189-195.

Balaban N., Giacometti A., Cirioni O., Gov Y. , Ghiselli R., Mocchegiani F., Viticchi C., Del Prete M.S., Saba V., Scalise G., Dell'Acqua G. (2003); "*Use of the Quorum-Sensing Inhibitor RNIII-Inhibiting Peptide to Prevent Biofilm Formation In Vivo by Drug-Resistant Staphylococcus epidermidis*", The Journal of Infectious Diseases, 187,625-630.

***Baronti C., Curini R., D'Ascenzo G., Di Corcia A., Gentili A., Samperi R.** (2000); "*Monitoring Natural and Synthetic Estrogens at Activated Sludge Sewage Treatment Plants and in a Receiving River Water*", Environmental Science and Technology, Vol. 34, No. 24, 5059-5066.

Bassler B.L., Losick R. (2006); "*Bacterially Speaking*", Cell, 125, April 21, 237-246.

***Baster K.** (2004); “*Triclosan in sewage treatment plants and surface waters*”; Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 61.

Bau M., Dulski P. (1996); “*Anthropogenic origin of positive gadolinium anomalies in river waters*”, Earth Planet. Sci. Lett. 143, 245–255.

***Belfroid A.C., Van der Horst A., Vethaak A.D., Schäfer A. J., Rijs G.B.J., Wegener J., Cofino W. P.** (1999); “*Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands*”; The Science of Total Environment, Vol. 225, Iss. 1-2, 101-108.

Bessard G. (2006); URL: <http://www-sante.ujf-grenoble.fr/SANTE/pharma/site.fac/antibipc/ANTIBIOT/ANTIBIO.JPG/ANTIBIOT.JPG>.

BIAM (Banque de Données Automatisée sur les Médicaments) (2004), URL : <http://www.biam2.org>.

Biocon (2003);

URL:http://www.biocon.com/biocon_products_enzymes_enduser_animal.asp#.

Birkett J.W., Lester J.N. (2003); “*Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge treatment Processes*”, CRC press, London.

Bourque (2004), URL : <http://www.ggl.ulaval.ca/personnel/bourque/s3/cycle.azote.html>

***Bruchet A., Hochereau C., Picard C., Decottignies V., Rodrigues J.M., Janex-Hbib M.L.** (2005) ; “*Analysis of drugs and personal care products in French source and drinking water: the analytical challenge and example of application*”; Water Science and Technology, Vol. 52, No. 8, 53-61.

Bura R., Cheung M., Liao B., Finlayson J., Lee B.C., Droppo I.G., Leppard G.G., Liss S.N. (1998); “*Composition of extracellular polymeric substances in the activated sludge floc matrix*”, Water Science and Technology, Vol. 37, No. 4- 5, 325-333.

Burrell P.C., Keller J., Blackall L.L. (1998); “*Microbiology of a Nitrite-Oxidizing Bioreactor*”, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 64, No. 5, 1878–1883.

***Bursch W., Fuerhacker M., Geminer M., Grillitsch B., Jungbauer A, Kreuzinger N., Moest E., Scharf S., Schmid S., Skutan S., Walter I.** (2003); “*Endocrine Disrupters in Aquatic Environment: The Austrian Approach – ARCEM*”; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.

Campos J.L., Garrido J.M., Méndez R., Lema J.M. (2001); “*Effect of Two Broad-Spectrum Antibiotics on Activated and Stability of Continuous Nitrifying System*”, Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol. 95, 1-10.

Canler J.P., Perret J.M., Duchène P., Cotteux E. (1999) ; “*Aide au diagnostic des stations d’épuration par observation microscopique des boues activées*”, Cemagref Editions, Paris.

Carter G., Young L.S., Bermudez L.E. (2004) ; “*A subinhibitory concentration of clarithromycin inhibits Mycobacterium avium biofilm formation*”, Antimicrob Agents Chemother, 48, 4907-4910.

Carucci A., Cappai G., Piredda M. (2006); “*Biodegradability and toxicity of pharmaceuticals in biological wastewater treatment plants*”, Journal of environmental science and health, Part A: Toxic/hazardous substances & environmental engineering Vol. 41, No.9, 1831-42.

*Castilioni S., Zuccato E., calamari D. (2004); “*Comparison of the concentrations of pharmaceuticals in the STPs and rivers in Italy as a tool for investigating their environmental distribution and fate*”; Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 61.

Chevrier G. (2006), Cours « on line » de biologie cellulaire, URL : <http://bio.m2osw.com/gcartable/membraneytoplasmiq.htm>).

CIEAU (Centre d'information de l'eau) (2006), URL : <http://www.cieau.com/toutpubl/sommaire/texte/8/contenu/842.htm>.

*Clara M., B. Strenn, M. Ausserleitner, N. Kreuzinger (2003); “*Comparison of Selected Micropollutants in the Membrane Bioreactor and a Conventional Wastewater Treatment Plant*”; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.

Cócera M., López O., Parra J.L., Mercadé M.E., Guinea J., Maza A. de la (2000) ; *Protective effect caused by the exopolymer excreted by Pseudoalter Antarctica NF₃ on liposomes against the action of octyl glucoside*”, International Journal of Pharmaceutics, 207, 37- 47.

*Coors A., Jones P.D., Giesy J.P., Ratte H.T. (2003); “*Assessing the Elimination of Estrogenic Activity in Advanced Wastewater Treatment With a Reporter Gene-Based Bioassay*”; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.

Daims H. (2001); “*Population Structure and Functional Analyses, by In Situ Techniques, of Nitrifying Bacteria in Wastewater Treatment Plants*”, Thèse Technischen Universität München, 2001.

Daims H., Michael W. T., Wagner M. (2006); “*Wastewater treatment: a model system for microbial ecology*”; Trends Biotechnology, 24(11), 483-9.

Da Motta M. (2001) ; “*Application de l'analyse d'image à la caractérisation de la microfaune de stations d'épuration des eaux usées*”, Thèse INPL, Nancy.

Davies J., Spiegelman G.B., Yim G. (2006) ; “*The world of subinhibitory antibiotic concentrations*”, Current Opinion in Microbiology, 9, 445–453.

De Wever H., Van Roy S., Dotremont C., Müller J., Knepper T. (2003); “*Comparison of Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) removal in Conventional Activated Sludge (CAS) Systems and Membrane Bioreactors (MBR)*” ; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.

Degrémont (1989) Mémento technique de l'eau, Lavoisier, Vol 1, Paris.

*Desbrow C., Routledge E.J., Brighty G.C., Sumpter J.P., Waldock M. (1998); “*Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening*”, Environmental Science and Technology, Vol. 32, No. 11, 1549 -1558.

*Drewes J.E., Fox P., Jekel M. (2001); “*Occurrence of iodinated X-ray contrast media in domestic effluents and their fate during indirect potable reuse*”, Journal of environmental science and health, Part A: Toxic/hazardous substances & environmental engineering, Vol. 36, No. 9, 1633-1645.

Deronzier G., Choubert J.-M. (2002), “*Traitement du phosphore dans les petites stations d'épuration à boues activées, Document technique*”, FNDAE n° 29, Cemagref.

Durmaz B., Sanin F.D. (2001); “*Effect of carbon to nitrogen ratio on the composition of microbial extracellular polymers in activated sludge*”, Water Science and Technology, Vol. 44, No. 10, 221-229.

Ehrich S., Behrens D., Lebedeva E., Ludwig W., Bock E. (1995); “*A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, Nitrospira moscoviensis sp. nov. and its phylogenetic relationship*”, Archives in Microbiology, Vol. 164, No. 1.

*Farré M.-I., Ferrer I., Ginebreda A., Figueras M., Olivella L., Tirapu L., Vilanova M., Barceló D. (2001); “*Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography–mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with Vibrio fischeri*”, Journal of Chromatography A, 938, 187–197.

Ferrée M.A., Shannon A.D. (2001); “*Evaluation of second derivative UV/visible spectroscopy technique for nitrate and total nitrogen analysis wastewater samples*”, Water Research, Vol. 35, No. 1, 327-332.

Frolund B., Palmgren R., Nielsen P.H. (1996); “*Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin*”, Water Research, Vol. 30, No. 8, 1749-1758.

Fromme H., Kuchler T., Otto T., Pilz K., Müller J., Wenzel A. (2002); “*Occurrence of phthalates and bisphenol A and find in the environment*”, Water Research, Vol. 36, 1429–1438.

Garnier C., Görner T., Lartiges B.S., Abdelouhab S., Donato P.D. (2005); “*Characterization of activated sludge exopolymers from various origins: A combined size-exclusion chromatography and infrared microscopy study*”, Water Research, 39, 3044–3054.

Geniebio (2006) (Ressources numériques en biochimie génie biologique), URL : http://www.geniebio.ac-aix-marseille.fr/biospip/album.php3?id_article=85&debut_image=0

GIS Mousses (1993) ; “*Guide de lutte contre les mousses biologiques stables dans les stations d'épuration à boues activées*”, Document technique FNDAE.

*Göbel A., Mc Ardell C.S., Giger W. (2004); “*Determination of macrolide and sulphonamide antibiotics in wastewater treatment*”, Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 293.

*Göbel A., Mc Ardell C.S., Suter M.J.-F., Giger W. (2004); “*Trace Determination of Macrolide and Sulfonamide Antimicrobials, a Human Sulfonamide Metabolite, and Trimethoprim in Wastewater Using Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Tandem Mass Spectrometry*”, Anal. Chem., 76, 4756-4764.

- *Golet Eva M., Alder A.C., Hartmann A., Ternes T.A., Giger W. (2001); “Trace Determination of Fluoroquinolone Antibacterial Agents in Urban Wastewater by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection”, *Anal. Chem.*, 73 (15), 3632-3638.
- Gomez J., Mendez R., Lema J.M. (1996); “The effect of Antibiotics on Nitrification Processes”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 57/58, 869-876.
- Günther F. (2000); “Wastewater treatment by greywater separation: Outline for a biologically based greywater purification plant in Sweden”, *Ecological Engineering* 15, 139–146.
- Halling-Sørensen B. (2001); “Inhibition of Aerobic Growth and Nitrification of bacteria in Sewage Sludge by Antibacterial agents”; *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 40, 451-460.
- Halling-Sørensen B., Jørgensen S.E. (1993); “The Removal of Nitrogen Compounds from Wastewaters”, *Studies in Environmental Science* 54, Elsevier, Amsterdam.
- *Halling-Sørensen B., Nielsen S.N., Lanzky P. F., Ingerslev F., Lützhøft H. C. H., Jørgensen S.E. (1998); “Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review”; *Chemosphere*, Vol. 36, Iss. 2, 357-393.
- *Hansen M, Krogh K.A., Ingreslev F., Andersen H., Jacobsen A.-M., Halling-Sørensen B. (2004); “Comparison of LC-MS/MS Methods for Steroid Estrogens using Electrospray Ionisation (ESI) and Atmospheric Pressure Photo Ionisation (APPI)”, *Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004*, 136.
- *Hartig C., Storm T., Jekel M. (1999); “Detection and identification of sulphonamide drugs in municipal waste water by liquid chromatography coupled with electrospray ionisation tandem mass spectrometry”; *Journal of Chromatography A*, Vol. 854, Iss. 1-2, 163-173.
- *Heberer T. (2002); “Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data”; *Toxicology Letters*, 131, 5–17.
- *Heberer T. (2002b); “Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water”; *Journal of Hydrology*, Vol. 266, Iss. 3-4, 175-189.
- Hellström D. (2003); “Exergy analysis of nutrient recovery processes”, *Water Science and Technology*, Vol. 48, No. 1, 27–36.
- Henze M., Harremoës P., Jansen J.C.J., Arvin E. (1997); “Wastewater Treatment; biological and chemical processes” , second edition, Springer, Berlin.
- *Hirsch R., Ternes T., Haberer K., Kratz K.-L. (1999); “Occurrence of antibiotics in the aquatic environment”; *The Science of the Total Environment*, 225, 109-118.
- *Hirsch R., Ternes T.A., Lindart A., Haberer K., Wilken R.-D. (2000); “A sensitive method for the determination of iodine containing diagnostic agents in the aqueous matrices using LC electro spray tandem MS-detection”; *Fres J Anal Chem.*, 366 , 835-841.
- *Holm J.V., Rügge K., Bjerg P.L., Christensen T.H. (1995); “Occurrence and distribution of pharmaceutical organic compounds in the groundwater down gradient of a landfill (Grindsted, Denmark)”, *Environmental Science and Technology*, Vol. 29, No. 5, 1415–1420.

***Huang C.-H., Renew J.E., Pinkston K., Sedlak D. L.** (2001); “*Occurrence and Fate of Antibiotic Compounds in Municipal Wastewater and Animal Waste*”, Conference Proceeding The Water Environment Federation 74th Annual Conference (WEFTEC) October 13-17, 2001, Atlanta, GA.

Hwang Y., Tanaka T. (1998); “*Control of Microthrix parvicella foaming in activated sludge*”, Water Science and Technology, Vol. 32, No. 5, 1678-1686.

IAWPRC (1986), Task Group on Mathematical Modelling for Design and Operations of Biological Wastewater treatment; “*Final Report: Activated Sludge Model*”, IAWPRC Scientific and technical report No. 1.

***Ivashechkin P., Corvini P. F.-X., Dohmann M.** (2003); “*Behaviour of endocrine disrupting chemicals during the treatment of municipal sewage sludge*”; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.

***Jacobsen B.N., Kjersgaard D., Winther-Nielsen M., Gustavson K.** (2003); “*Combined Chemical Analyses and Biomonitoring at Avedoere WWTP in 2002*”; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.

***Janex M.L., Bruchet A., Le´vi Y., Ternes T.** (2002) ; “*Composés pharmaceutiques : présence dans l’environnement et devenir en traitement d’eau potable*”; Journées Information Eau, Poitiers, 18-20 September 2002.

Jenkins D., Richard. M.G., Daigger. G.T. (1993); “*Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming*”, Lewis Publishers, 2nd Edition, Michigan.

***Johnson A.C., Belfroid A. , Di Corcia A. D.** (2000); “*steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent*”; The Science of Total Environment, Vol. 256, Iss. 2-3, 163-173.

Jones O.A.H., Voulvoulis N., Lester J.N. (2005); “*Human Pharmaceutical in Wastewater Treatment Processes*”, Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 35, 401- 427.

Jones O.A.H, Voulvoulis N., Lester J.N. (2004); “*The fate of selected human pharmaceuticals during wastewater treatment*; Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 290.

Jones O.A.H., Voulvoulis N., Lester J.N. (2002); “*Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals*”, Water Research, 36, 5013–5022.

***Jørgensen S.E., Halling-Sørensen B.** (2000); “*Drugs in the environment*”, Chemosphere, 40, 691–699.

Juretschko S., Timmermann G., Schmid M., Schleifer K.H., Pommerening-Röser A., Koop H.P., Wagner M. (1998); “*Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: Nitrosococcus mobilis and Nitrospira-like bacteria as dominant populations*”, Appl. Environ .Microbiol., 64, 3042-3051.

***Kanda R., Paul G. , Huw A., James F.** (2003); “*Pharmaceutical and personal care products in the sewage treatment works*”; J. of Environ. Monit., 5, 823-830.

***Kanfer I., Skinner M.F., Walker R. B.** (1998); “*Analysis of macrolide antibiotics*”, Journal of Chromatography A, 812, 255–286.

- ***Khan S.J., Ongerth J.E.**, (2004); “*Modelling of pharmaceutical residues in Australian sewage by quantities of use and fugacity calculations*”, Chemosphere 54, 355-367.
- ***Kloepfer A., Gnirss R., Jekel M., Reemtsma T.** (2003); “*Occurrence of Benzothiazoles in Municipal Wastewater and their fate in Biological Treatment*”; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.
- Klotz M. G., Norton J.M.** (1998); “*Multiple copies of ammonia monooxygenase (amo) operons have evolved under biased AT/GC mutational pressure in ammonia-oxidizing autotrophic bacteria*”, FEMS Microbiology Letters, 168, 303- 311.
- ***Knepper T.P., Barcelo D., Lindner K., Seel P., Reemtsma T., Ventura F., De Wever H., Van der Voet E., Gehringer P., Schönerkle M.** (2003); “*Removal of Persistent Polar Pollutants Through Improved Treatment of Wastewater Effluents (P-THREE)*”; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.
- ***Kolpin D.W., Furlong E. T., Meyer M. T., Thurman E. M., Zaugg S.D., Buxton H.T.** (2002); “*Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999-2000: A National Reconnaissance*”, Environmental Science & Technology, 36 (6), 1202 -1211.
- ***Komori K., Hiroaki T., Yuji O., Makoto Y., Chikashi S.** (2003); “*Analysis and occurrence of estrogens in wastewater in Japan*”; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.
- ***Kozak R.G., D’Haese I., Verstraete W.** (2001); “*Pharmaceuticals in the environment: Focus on 17 α -ethinyloestradiol*” , Pharmaceuticals in the Environment. Sources, Fate, Effects and Risks , Kümmerer K.(Editor), Springer, Heidelberg.
- ***Kreuzinger N., Clara M., Sternn B. , Kroiss H.** (2003); “*Relevance of the sludge retention time (SRT) as design criteria for waste water treatment plants for the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals from waste water*”; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.
- ***Krogh K.A., Andersen H.R., Hansen M., Ingerslev F., Halling-Sørensen B.** (2004); “*Determination of free and conjugated steroid estrogens in wastewater effluent*”; Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 137.
- Kuchma S.L., O’Toole G.A.** (2000) ; “*Surface-induced and biofilm-induced changes in gene expression*”, Current Opinion in Biotechnology, 11, 429–433.
- ***Kümmerer K.** (2001); “*Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review*”; Chemosphere, Vol. 45, Iss. 6-7, 957-969.
- ***Kümmerer K.** (2001b); “*Emission and Biodegradability of Pharmaceuticals, Contrast Media, Disinfectants and AOX from Hospitals*”, Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks; Kümmerer K. (Editor), Springer, Heidelberg.
- Kümmerer K., Helmers E.** (2000); “*Hospitals effluents as a source of gadolinium in the aquatic environment*”, Environmental Science and Technology, Vol. 34, No. 4, 573–577.

***Kümmerer K., Steger-Hartmann T., Meyer M.** (1997); “*Biodegradability of the anti-tumour agent ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage*”, *Water Research*, 31, 11, 2705-2710.

Kümmerer K., Wallenhorst T., Kielbassa A.M. (1997); “*Mercury emissions from dental chairs by disinfection*”, *Chemosphere*, Vol. 35, No. 4, 827-833.

***Kümpel T., Alexy R., Kümmerer K.** (2001); “*What Do We Know about Antibiotics in the Environment?*”, *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*, Kümmerer K. (Editor), Springer, Heidelberg.

Laboratoire de bactériologie clinique de la faculté de pharmacie de Lille, Base de données CMI

<http://pharmaweb.univlille2.fr/apache2default/labos/Bacteriologie/ACCUEIL/index.php>

Laspidou C.S., Rittmann B.E. (2002); “*Non-steady state modelling of extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass*”, *Water Research*, 36, 8, 1983-1992.

Lecomte T. (1994); “*La consommation pharmaceutique en 1991 ; Evolution 1970-1980-1991*”, Institut de Recherche et Documentation en Economie de la Santé, Décembre 1994.

Lewis K. (2001); “*Riddle of Biofilm Resistance*”, *Antimicrob Agents Chemother.*, 45(4), 999–1007.

Liao B.Q., Allen D.G., Droppo I.G., Leppard G.G., Liss S.N. (2001); “*Surface properties of sludge and their role in bioflocculation and settleability*”, *Water Research*, 35, 2, 339-350.

***Löffler D., Ternes T. A.** (2003); “*Determination of acidic pharmaceuticals, antibiotics and ivermectin in river sediment using liquid chromatography–tandem mass spectrometry*”; *Journal of Chromatography A*, 1021(2003), 133–144.

***Loke M.-L., Ingerslev F., Halling-Sørensen B., Tjørnelund J.** (2000); “*Stability of Tylosin A in manure containing test systems determined by high performance liquid chromatography*”, *Chemosphere* 40, 759–765.

Lottermoser B.G. (1994); “*Gold and platinumoids in sewage sludges*”, *International Journal of Environmental Studies*, 46, 167–171.

Lykiardopol A., Zeimes P., Renard A., de Montmollin G., Pierrehumbert G. (1999); “*La nitrification et la dénitrification dans les systèmes à boues activées*”, mémoire de l'école polytechnique fédéral de Lausanne.

Massé A. (2004); “*Bioréacteur à membranes pour le traitement des eaux résiduaires urbaine : spécificités physico-chimique du milieu biologique et colmatage*”, Thèse d'INSA Toulouse.

Mayer J.A., Bester K. (2004); “*Organophosphate flame retardants and plasticizers in wastewater treatment plants*”, Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 211.

***Mcardell C.S., Alder A.C., Clara M., Göbel A., Joss A., Keller E., Kreuzinger N., Plüss H., Siegrist H., Strenn B.** (2004); “*Impact of treatment technologies on the elimination of selected pharmaceuticals from wastewater*”, Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 62.

***Mcardell C.S., Molnar E., Suter M. J-F., Giger W.** (2003); “*Occurrence and fate of macrolide antibiotics in waste water treatment plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland*”, *Environmental Science and Technology*, Vol. 37, No. 24, 5479-5486.

***Mons M.N., Versteegh J.F.M., Schrap S.M, Stoks P.G., Noij T.H.M.** (2004); “*Pharmaceuticals in drinking water and human health*”, Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 294.

Montforts M.H.M.M. (2001); “*Regulatory and methodological aspect concerning the risk assessment for medicinal products; needs for research*», *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*, Kümmerer K. (Editor), Springer, Heidelberg.

Mrkva M. (1983); “*Evaluation of Correlations between Absorbance at 254 NM and COD of River Waters*”, *Water Research*, 17, 231-235.

NACWA (The National Association of clean water Agencies) (2000): “*Evaluation of Domestic Sources of Mercury*”, URL:
<http://www.nacwa.org/pubs/mercury/mercury.cfm>

Nalca Y., Jansch L., Bredenbruch F., Geffers R., Buer J., Haussler S. (2006) ; “*Quorum-sensing antagonistic activities of azithromycin in Pseudomonas aeruginosa PAOI: a global approach*”, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 50, 1680-1688.

Neu H.C., Gootz T.D. (2001); “*Antimicrobial Chemotherapy*”, URL:
<http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch011.htm>

***Nikolaou A.D., Golfinopoulos S.K., Kostopoulou M.N., Kolokythas G.A., Lekkas T.D.** (2002), “*Determination of volatile organic compounds in surface waters and treated wastewater in Greece*”, *Water Research*, 36, 2883–2890.

Novo D.J., Perlmutter N.G., Hunt R.H., Shapiro H.M. (2000) ; “*Multiparameter Flow Cytometric Analysis of Antibiotic Effects on Membrane Potential, Membrane Permeability, and Bacterial Counts of Staphylococcus aureus and Micrococcus luteus*”, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 44, No. 4, 827-834.

***Öberg K., Warman K., Öberg T.** (2002); “*Distribution and levels of brominated flame retardants in sewage sludge*”, *Chemosphere*, 48, 805–809.

Otto M. (2004), “*Quorum-sensing control in Staphylococci – a target for antimicrobial drug therapy?*”, *FEMS Microbiology Letters*, 241, 135–141.

Pandolfi D. (2005) ; “*Caractérisation morphologique et physiologique de la biomasse des boues activées par analyse d’images*”, Thèse, INPL.

***Paxéus N.** (2003); “*Removal of Selected NASIDs, Gemfibrozil, Carbamazepin, β -Blockers, Trimethoprim and Triclosan in Conventional Wastewater Treatment Plants in Five RU Countries and their Discharge to the Aquatic Environment*”; Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.

***Paxéus N.** (1996); “*Organic pollutants in the effluent of large wastewater treatment plants in Sweden*”, *Water Research*, 30, 1115-1122.

Pechère J.C. (2001); “*Macrolide resistance mechanisms in Gram-positive cocci*”, *International Journal of antimicrobial agents*, 18, 525-528.

Philips S., Laanbroek H.N, Verstraete W. (2002); “*Origin, causes and effects of increased nitrite concentration in aquatic environments*”, Reviews in Environmental Science & Bio/technology, 1, 115 – 141.

***Pojana P.G., Busetti F., Giacomella S., Pojana G., Cuomo M., Badoer S., Macomini A.** (2004a); “*HPLC-ESI-MS monitoring of endocrine Disruptor Compound (EDCs) in wastewater samples from a Sewage Treatment Plant(STP)*”, Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 209.

***Pojana P.G., Busetti F., Giacomella S., Pojana G., Cuomo M., Badoer S., Macomini A.** (2004b); “*Monitoring of Sixteen Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and their hydroxylated metabolites (Hydroxy-PAHs) in a Sewage treatment Plant (STP)*”, Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 211.

Pons M.N., Spanjers H., Baetens D., Nowak O., Gillot S., Nouwen J., Schuttinga N. (2004), “*Wastewater Characteristics in Europe- A Survey*”, European Water Management Online, 1-10.

Qasim S.R. (1998); “*Wastewater Treatment Plants: Planning, Design and Operation*”, CRC press, New York.

Randall C.W., Barnard J.L., STENSEL H.D. (1992); “*Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal*”, Technomic Publishing co inc., Lancaster, USA.

Richard M. (1989); “*The bench sheet monograph on activated sludge microbiology*”, The Water Pollution Control Federation, Virginia.

Richard M. (2003); “*Activated sludge microbiology problem and their control*”, Presented at the 20th Annual USEPA National Operator Trainers Conference Buffalo, NY, June 8, 2003.

Rodgers F.G., Tzianabos A.O, Elliott T.S.J. (1990); “*The effect of the antibiotics that inhibit cell-wall, portion, and DNA synthesis on the growth and morphology of Legionella pneumophila*”, J. Med. Microbiol., Vol. 31, 37- 44.

***Schneider C., Kuch B., Hohlstein C., Gaiser S., W.Metzger J.** (2004); “*Fate of synthetic organic substances in wastewater treatment process*”, Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 213.

***Schrap M., Derksen A., Beet M.** (2004); “*Environmental risks of pharmaceutical*”, Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 61.

***Schwab B.W., Hayes E.P., Fiori J.M., Mastrocco F.J., Roden N.M., Cragin D., Meyerhoff R.D., D’aco V.J., Anderson P.D.** (2005); “*Human pharmaceuticals in US surface waters : A human health risk assessment*”, Regulatory Toxicology and Pharmacology, 42, 296–312.

Seviour J.R., Mino T., Onuki M. (2003); “*The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems*”, FEMS Microbiol. Rev., 27, 99-127.

Shih P.-C., Huang C.-T. (2002); “*Effects of quorum-sensing deficiency on Pseudomonas aeruginosa biofilm formation and antibiotic resistance*”, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 49, 309-314.

Soddell J., Seviour R. (1996); “*Growth of an activated sludge foam-forming bacterium, Nocardia Pinensis on hydrophobic substrates*”, Water Science and Technology, Vol. 34, No. 5, 113-118.

Sofer D., Gilboa-Garber N., Belz A., Chaim-Garber N. (1999); “*Subinhibitory erythromycin Represses Production of Pseudomonas aeruginosa Lectin, Autoinducer and Virulence Factors*”, *Chemotherapy*, 45, 335- 341.

***Steger-Hartmann T., Kümmerer K., Hartmann A.** (1997); “*Biological Degradation of Cyclophosphamide and Its Occurrence in Sewage Water*”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 35, Iss. 2, 174-179.

Stenstrom M.K., Poduska R. (1980); “*The effect of dissolved oxygen concentration on nitrification*”, *Water Research*, 10, 603-649.

***Strenn B., Clara M., Gans O., Kreuzinger N.** (2003); “*Carbamazepine, diclofenac, Ibuprofen and bezafibrate- investigation on the behaviour of selected Pharmaceuticals durin wastewater Treatment*”, *Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water*, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.

***Stuer-Lauridsen F., Birkved M., Hansen L.P., Holten Lützhøft H.-C., Halling-Sørensen B.** (2000); “*Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use*”, *Chemosphere*, 40, 783-793.

***Stumpf M., Ternes T.A., Wilken R.-D., Rodrigues S.V., Baumann W.** (1999); “*Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil*”, *The Science of The Total Environment*, Vol. 225, Iss. 1-2, 135-141.

Suwa Y., Imamura Y., Suzuki T., Tashiro T., Urushigawa Y. (1994); “*Ammonia-oxidizing bacteria with different sensitivities to (NH₄)₂SO₄ in activated sludge*”, *Water Research*, 28, 1523- 1532.

Tateda K., Standiford T.J, Pechere J.C., Yamaguchi K. (2004); “*Regulatory effects of macrolides on bacterial virulence: potential role as quorum sensing inhibitors*”, *Curr. Pharm Des.*, 10 (25), 3055-65.

Tchobanoglous G., Burton F.L. (1991); “*Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse*”, McGraw-Hill Inc, New York.

***Ternes T.A.** (1998); “*Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers*”, *Water Research*, 32, 3245-3260.

***Ternes T.A.** (2001); “*Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples*, *Trends in Anal. Chem.*, Vol. 20, No. 8, 419–434.

***Ternes T.A., Stumpf J.M., Haberer K., Wilken R.-D., Servos M.** (1999); “*Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants: I. Investigations in Germany, Canada and Brazil*”, *The Science of The Total Environment*, Vol. 225, Iss. 1-2, 81-90.

***Ternes T.A., Hirsch R.** (2000); “*Occurrence and Behaviour of X-ray Contrast Media in sewage Facilities and the Aquatic Environment*”, *Environmental Science and Technology*, Vol. 34, No. 13, 2741-2748.

***Ternes T.A., Bonerz M., Schmidt T.** (2001); “*Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry*”; *Journal of Chromatography A*, Vol. 938, Iss. 1-2, 175-185.

***Ternes T.A., Janex-Habibi M.-L., Knacker T., Kreuzinger N., Siegrist H.** (2004); “*Assessment of Technologies for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care*

Products in Sewage and Drinking Water Facilities to Improve the Indirect Potable Water Reuse”, Detailed Report of POSEIDON, August 2004.

Teske A., Alm E., Regan J.M., Toze S., Rittmann E., Stahl D.A. (1994); “*Evolutionary relationships among ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria*”, J. Bacteriol., 176, 6623-6630.

Tsbery H., Yaakov H., Cohen S., Giterman T., Matityahou A., Fridkin M., Ofek I. (2005); “*Neopeptide Antibiotics That Function as Opsonins and Membrane-Permeabilizing Agents for Gram-Negative Bacteria*”, Antimicrob. Agents Chemother., 49(8), 3122–3128.

Uma B., Sandhya S. (1997); “*Pyridine degradation and heterocyclic nitrification by Bacillus coagulans*”, Canadian journal of microbiology, Vol. 43, No. 6, 595-598.

UN (1999); Global Development Research Centre; “*Water Crisis: Everyone Lives Downstream*”; <http://www.gdrc.org/uem/water/water-crisis.html>.

Urbain V., Block J.-C., Manem J. (1993); “*Bioflocculation in activated sludge: an analytic approach*”, Water Research, 27, 829-838.

U.S.EPA (1975) ; “*Process Design Manual for Nitrogen Control*”, U.S.EPA Office of technology Transfer, Washington D.C., 1975.

U.S.EPA (1993) ; “*Process Design Manual for Nitrogen Control*”, U.S.EPA Office of technology Transfer, Washington D.C., 1993.

Vaara M. (1993); “*Outer membrane permeability barrier to azithromycin, clarithromycin, and roxithromycin in gram-negative enteric bacteria*”, Antimicrob. Agents Chemother., 37(2), 354-356.

Vietech (2003), URL: <http://vietech1.free.fr/realisations/eaunet.htm>

Voet E., Nikolic I., Huppes G., Kleijn R. (2003) ; “*Integrated Systems Analysis of Persistent Polar Pollutants in the Water Cycle*”, Selected Proceedings of the 4th IWA Specialized Conference on Assessment and Control of Hazardous Substances in Water, Aachen, Germany, 14-17 September , 2003.

Wagner M., Loy A., Nogueira R., Purkhold U., Lee N., Daims H. (2002); “*Microbial community composition and function in wastewater treatment plants*”, Antonie van Leeuwenhoek, No. 81, 665-680.

WDNR (Wisconsin Department of Natural Resources) (2006), URL: <http://www.dnr.state.wi.us/org/caer/cea/mercury/potw.htm>

***Webb S.F.** (2001a); “*A data-based perspective on the environmental risk assessment of human pharmaceuticals I-collation of available ecotoxicity data*”, Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks, Kümmerer K. (Editor), Springer, Heidelberg.

***Webb S.F.** (2001b); “*A data-based perspective on the environmental risk assessment of human pharmaceuticals II-aquatic risk characterisation*”, Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks, Kümmerer K. (Editor), Springer, Heidelberg.

Westlund A.D., Hagland E., Rothman M. (1996); “*Bulking and foaming caused by Microthrix parvicella at three large sewage treatment plants in the Greater Stockholm area*”, Water Science and Technology, Vol. 34, No. 5, 281-287.

WHO (2006); World Health Organization Fact Sheet: *"Health in Water Resources Development"*,

http://www.who.int/docstore/water_sanitation_health/vector/water_resources.htm

Wingender J., Neu T.R., Flemming H.-C. (Eds) (1999); *"Microbial Extracellular Polymeric Substances"* ; Springer, Berlin.

***Witters H.E., Ruymen V., Heijerick D., Hoebeke L. (2004)**; *"Hospital waste water: source of distribution of pharmaceuticals with toxic potency to the environment?"*, Abstracts of SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague 2004, 88.

Yang S., Carlson K.H. (2004); *"Solid-phase extraction-high-performance liquid chromatography-ion trap mass spectrometry for analysis of trace concentration of macrolide antibiotic in natural and wastewater matrices"*, Journal of Chromatography A, 1038, 141-155.

Yang S., Jongmun C., Carlson K.H. (2006); *"Trace analysis and occurrence of anhydroerythromycin and tylosin in influent and effluent wastewater by liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry"*, Anal. Bioanal. Chem., 385, 623–636.

Yasuda H., Ajiki Y., Koga T., Kawada H., Yokota T. (1993) ; *"Interaction between Biofilms Formed by Pseudomonas aeruginosa and Clarithromycin"*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 37 (9), 1749-1755.

***Zuccato E., Bagnati R., Fioretti F., Natangelo M., Calamari D., Fanelli R. (2001)**; *"Environmental Loads and Detection of Pharmaceuticals in Italy"*, Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks, Kümmerer K. (Editor), Springer, Heidelberg.

***Zwiener C., Frimmel F.H. (2000)**; *"Oxidative Treatment of Pharmaceuticals in Water"*, Water Research, 34, 1881-1885.

***Zwiener c., Gremm T.J., Frimmel F.H. (2001)**; *"Pharmaceutical Residues in the Aquatic Environment and their Significance for Drinking Water Production"*, Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks, Kümmerer K. (Editor), Springer, Heidelberg.

Annexe A

Les caractéristiques des images

a.1 Les images monochromes (d'après Pandolfi, 2006)

Une image monochrome est composée d'un unique plan de pixel, avec chaque valeur de pixel codant généralement pour 256 niveaux de gris : le niveau de gris 0 correspond au noir, le niveau de gris 256 au blanc (figures a.1).

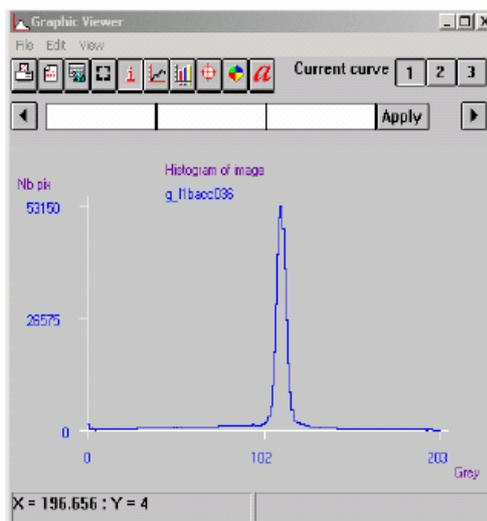
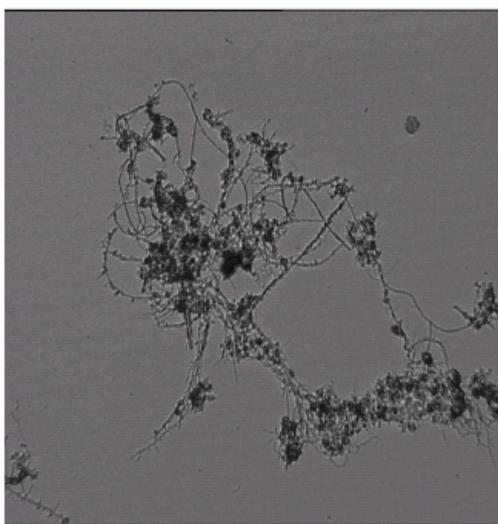
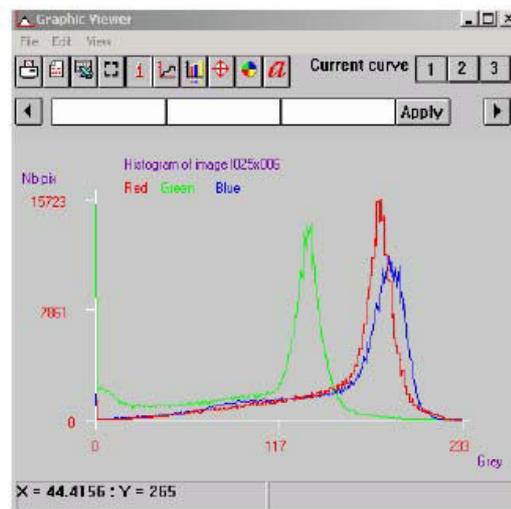
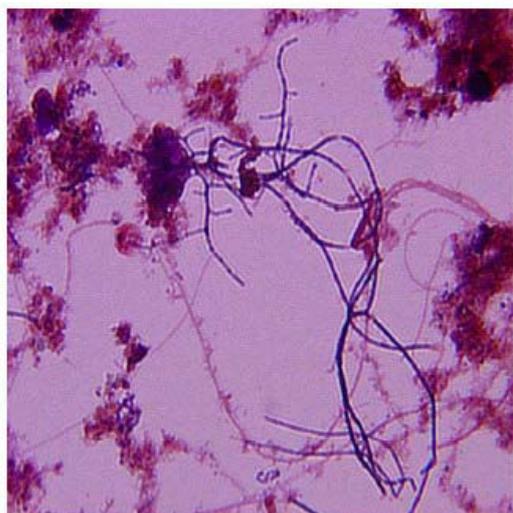


Figure a.1 : Image monochrome et niveaux de gris

a.2 Les images couleurs

L'image couleur est l'association de trois plans de pixel en niveaux de gris sur les trois couleurs primitives rouge, vert et bleu (figures a.2).



Figures a.2 : Image couleur et couleurs primitives

a.3 Les principales transformations morphologiques

Seuillage

Le seuillage est une opération qui permet de transformer une image en niveaux de gris (256 niveaux) en image binaire à deux niveaux (figure a.3). On sélectionne les niveaux de gris pour mettre en valeur l'information désirée. Dans l'image binaire l'ensemble des pixels d'intérêt prend le niveau 1. Tous les autres pixels (fond de l'image) sont mis à 0. Le seuillage est une étape critique qui peut être faite en mode manuel ou en mode automatique. Il est réalisé par entropie (Kanpur et al, 1985) ou par factorisation (Sonka et al, 1993), algorithmes proposés par le logiciel Visilog 5.2.

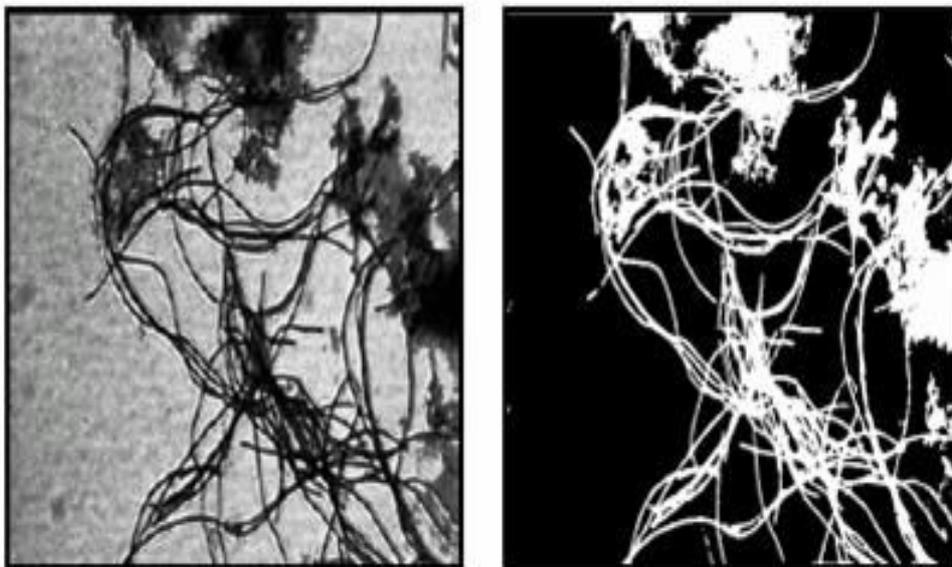


Figure a.3 : Image en niveaux de gris et image binaire

Erosion et dilatation

L'érosion d'un objet par un élément structurant est l'ensemble des points de l'objet pour lesquels l'élément structurant est totalement inclus dans l'objet. L'érosion supprime les petites particules, réduit la taille des autres (figure a.4, images a, b et c). L'opérateur dual de l'érosion est la dilatation. Elle représente la ligne externe à l'objet. Elle augmente la taille des particules, peut combler des concavités et connecter des particules (figure a.4, image d).

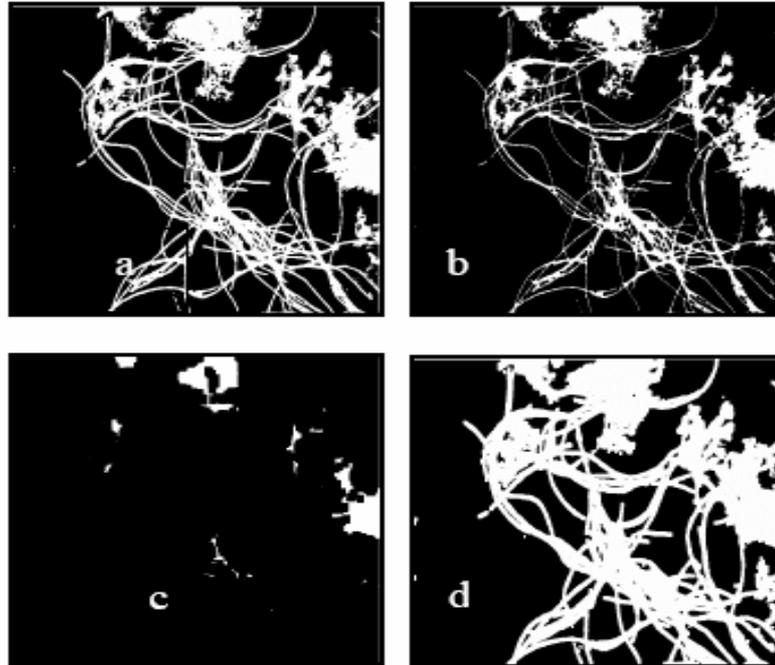


Figure a.4 : a) image binaire, b) image érodé d'ordre 1, c) image érodé d'ordre 8, d) image dilaté d'ordre 2

Ouverture et fermeture

L'ouverture est composée d'une érosion suivie d'une dilatation par le même élément structurant B de centre X . elle adoucit les contours, coupe les isthmes étroits et supprime les petites îles. La fermeture est une dilatation suivie d'une érosion. Cette fonction permet un remplissage des petits trous à l'intérieur des particules, élimine les petits détails par un lissage des contours de l'objet et connecte les particules proches.

Erosion et reconstruction

Cette fonction permet d'effectuer une érosion avec une taille de l'élément structurant imposé par l'opérateur. A l'aide d'une série de dilations conditionnelles la reconstruction permet de récupérer les objets qui n'ont pas été détruits lors de l'étape d'érosion dans leur l'état d'origine (figure a.5).

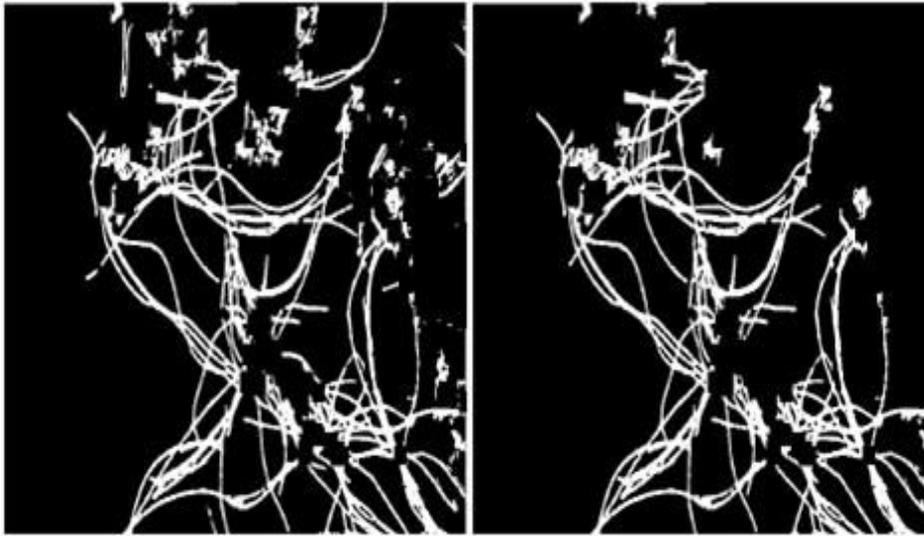


Figure a.5 : Erosion d'ordre 4 et reconstruction

Squelettisation

La squelettisation d'une image binaire permet d'extraire le squelette de l'image. Il représente en fait la quantité d'information minimale qui décrit complètement l'image. Le squelette d'un objet est la ligne des points pour lesquels la distance du bord de l'objet est atteint par au moins deux points. Les éléments obtenus après squelettisation sont des lignes d'épaisseur d'un pixel (figure a.6).

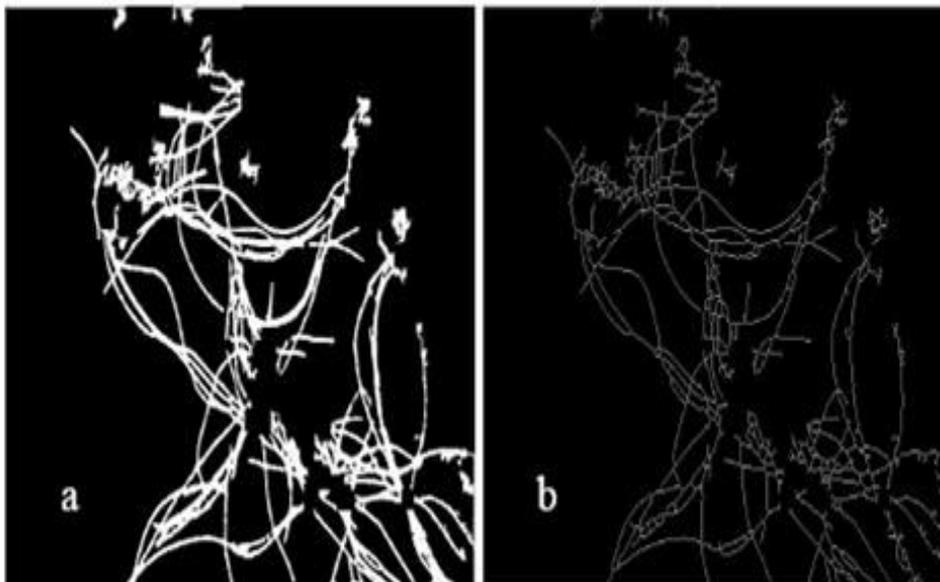


Figure a.6 : a) Filaments binarisés, b) Squelette

a.4 Logiciel de traitement d'images

Les images ont été analysées à l'aide du logiciel Visilog 5.2 (Noesis, Les Ulis) à partir de routines écrites dans un langage semblable au langage C. Les résultats sont sauvegardés sous forme de fichiers texte qui peuvent être importés dans un tableur.

On a utilisé le programme « *Floc_sec* » et « *Gram_frag* » pour l'analyse des échantillons « état sec » et « coloration Gram », respectivement. Dans le premier cas, initialement on a transformé des images couleurs en image monochrome.

Annexe B

Jar test

Dans cette annexe, on explique les résultats du Jar test. On a utilisé ces résultats dans la partie 3.4.

C.1 Chlorure ferrique

D'après la littérature (Henze et al, 1997), il faudrait utiliser pour la précipitation du phosphore un rapport molaire Fe^{3+}/P entre 0.5 et 2.5.

D'un autre côté la concentration moyenne de phosphore dans les eaux usées des STEP (en France) (Pons et al, 2004) est 9,3 mg/l. Donc le nombre de moles de Fe^{3+} nécessaire varie entre :

$$0.5 \frac{9,3 \text{ gP/m}^3}{31 \text{ g/mol}} = 0,15 \text{ mol Fe}^{3+}/\text{m}^3 \text{ (eau usée) soit } \sim 24 \text{ g FeCl}_3/\text{m}^3 = 24 \text{ mg FeCl}_3/\text{l}$$

et

$$2.5 \frac{9,3 \text{ gP/m}^3}{31 \text{ g/mol}} = 0,75 \text{ mol Fe}^{3+}/\text{m}^3 \text{ (eau usée) soit } \sim 122 \text{ g FeCl}_3/\text{m}^3 = 122 \text{ mg FeCl}_3/\text{l}$$

Selon Deronzier et Choubert (2002), une valeur de Fe^{3+}/P égale à 1.5 est conseillée dans la pratique soit $0,45 \text{ mol Fe}^{3+}/\text{m}^3 = 73 \text{ mg FeCl}_3/\text{l}$

Une gamme beaucoup plus large de concentration que celle préconisée a été utilisée pour les essais. La figure c.1 présente la surface moyenne de plusieurs béchers.

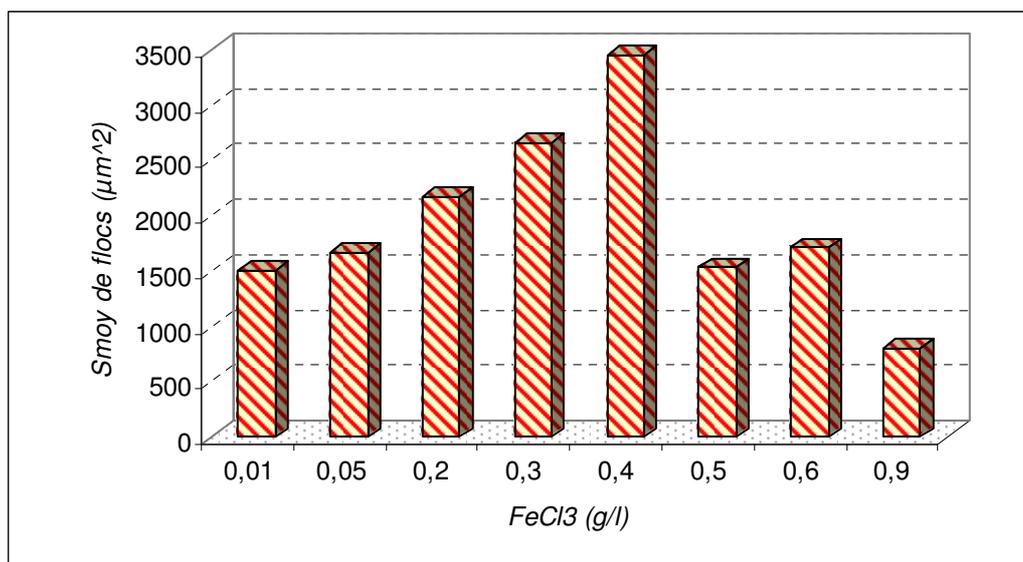


Figure c.1 : Changement de la surface moyenne des flocs de plusieurs béchers pour différentes concentrations en chlorure ferrique

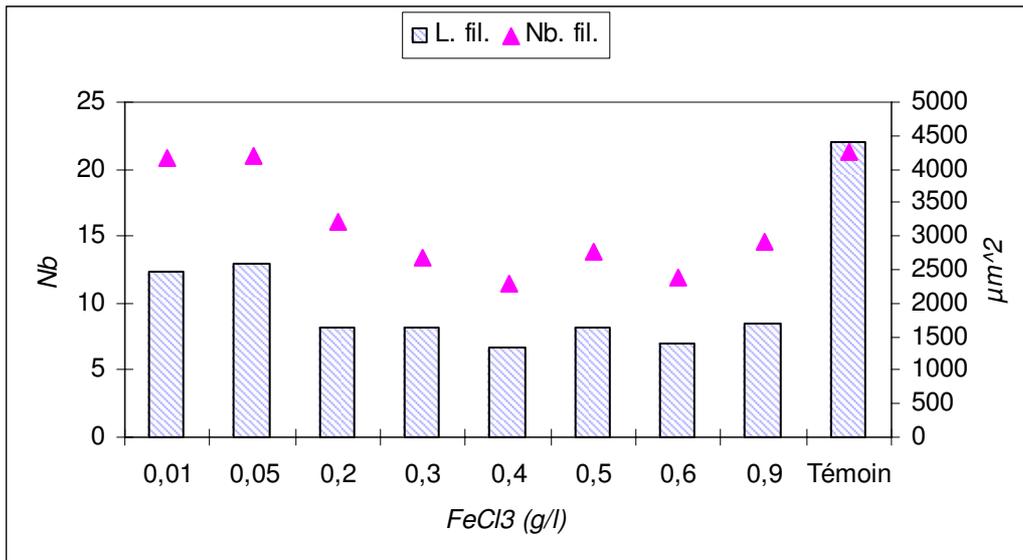


Figure c.2 : Changement des paramètres des bactéries filamenteuses pour différentes concentrations en chlorure ferrique

Il faut ajouter que les autres paramètres (comme le nombre de filament et la surface de floccs) dépendent de l'utilisation des coagulants. La figure c.2 montre un exemple de changement de caractéristiques des bactéries filamenteuses en présence de chlorure ferrique.

C.2 Coagulant synthétique anionique

On a dissous 0,2 g de coagulant cationique dans 100 ml d'eau désionisée et on a ajouté quelques ml à chaque béccher. Les analyses réalisées montrent que ce type de coagulant n'est pas efficace pour la décentration des floccs. La figure c.3 présente la surface moyenne calculée pour plusieurs bécchers.

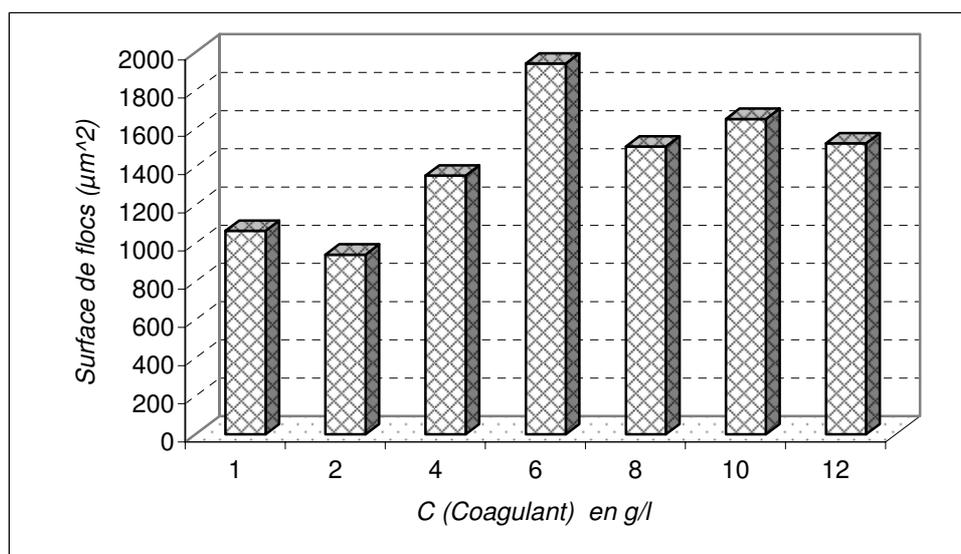


Figure c.3 : Surface moyenne dans les différents bécchers pour différentes concentrations de coagulant synthétique anionique (en g de coagulant / l d'eau usée)

On voit que dans le cas d'une utilisation de 6 g/l de coagulant anionique, on obtient une meilleure surface de floccs. Malgré cela, le changement de surface n'est pas important comme on a pu s'en rendre compte visuellement.

C.3 Coagulant synthétique cationique

On a dissous 0,2 g de coagulant cationique dans 100 ml d'eau désionisée et on a ajouté quelques ml à chaque b cher. Pendant les expériences on a vu que le coagulant synthétique cationique réagissait visiblement fortement. Les floccs grossissent, s'épaississent et d cament très rapidement. La figure c.4 montre le nombre de floccs en fonction de la teneur en coagulant.

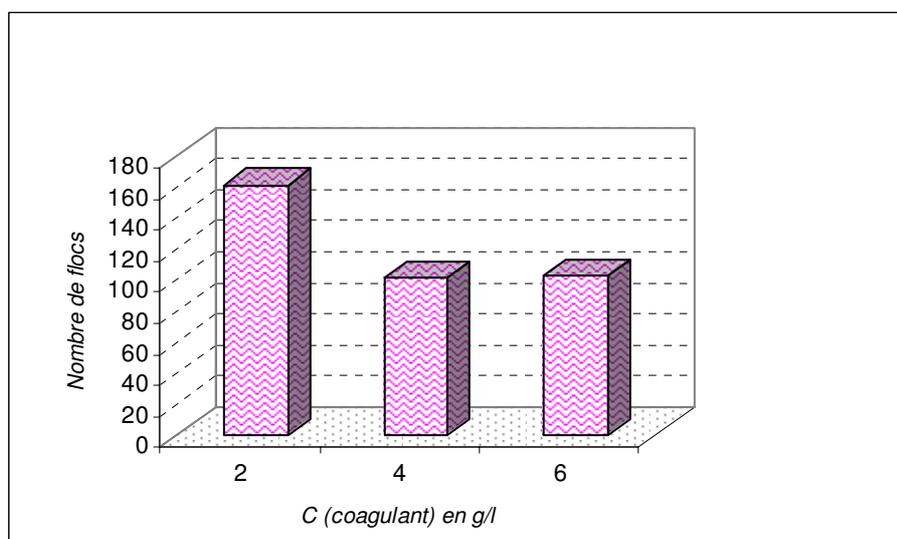


Figure c.4 : Changement de nombre de floccs dans trois b chers pour différentes concentrations de coagulant cationique (en g de coagulant / l d'eau usée)

Annexe C

Liste des expériences

N° de manip	Début	Fin	Concentration d'antibiotique utilisé (mg/l)	Analyses effectués
1	21/03/2005	24/03/2005	267	Ammonium, UV-Vis
2	29/03/2005	30/03/2005	267	Ammonium, UV-Vis, FL spectre
3	04/04/2005	06/04/2005	267	Ammonium, UV-Vis, FL spectre
4*	15/04/2005	18/04/2005	267	Ammonium, UV-Vis, FL spectre
5	20/04/2005	21/04/2005	333	Ammonium, UV-Vis, FL spectre
6	22/04/2005	25/04/2005	100 - 50 - 25	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS
7	02/05/2005	04/05/2005	100 - 50 - 25	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec)
8	09/05/2005	11/05/2005	100 - 50 - 25	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec)
9*	16/05/2005	18/05/2005	100 - 50 - 25	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec)
10	23/05/2005	26/05/2005	20 - 10 - 5	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec)
11	20/06/2005	22/06/2005	20 - 10 - 5	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec)
12	27/06/2005	30/06/2005	5 - 2 - 1,25	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec)
13	05/10/2005	07/10/2005	50 - 20 - 6 - 1	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec), Nitrate (Hach®)
14	17/10/2005	19/10/2005	35 - 22 - 7 - 1	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec), Nitrate (HPLC)
15	08/11/2005	10/11/2005	30 - 20 - 15 - 7	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec), Nitrate (HPLC)
16	23/11/2005	25/11/2005	30 - 20 - 15 - 7	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, MV, Analyse d'image (Flocs_Sec), Nitrate (HPLC)
17	09/02/2006	09/02/2006	Jar test	-
18	13/02/2006	15/02/2006	C(ERY) = 20 C(C) = 4 C(Fe) = 0,45 g/l	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, MV, Analyse d'image (Flocs_Sec), Nitrate (HPLC)
19	06/03/2006	09/03/2006	C(ERY) = 20 C(C) = 4 C(Fe) = 0,5 g/l	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, MV, Analyse d'image (Flocs_Sec, Gram), Nitrite (Hach®)
20	21/03/2006	23/03/2006	C(ERY) = 20 C(C) = 4 C(Fe) = 0,33 g/l	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec, Gram), Nitrite (Hach®)
21 ⁺	19/04/2006	21/04/2006	100 - 50 - 20	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec), Nitrite (Hach®), Nitrate (Hach®)
22 ⁺	10/05/2006	12/05/2006	15 - 10 - 5	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec), Nitrite (Hach®), Nitrate (Hach®)
23 ⁺	13/06/2006	15/06/2006	20 - 10	Ammonium, UV-Vis, FL spectre, MS, Analyse d'image (Flocs_Sec, Gram), Nitrite (Hach®), Nitrate (Hach®)

* Prélèvement à la STEP de Pont-à-Mousson

⁺ Réalisé avec la tylosine

AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :
Monsieur Nicolas ROCHE, Professeur, LPPE, Europôle de l'Arbois, Aix-en-Provence
Monsieur Christophe DAGOT, Professeur, ENSIL, Limoges

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Monsieur ALIGHARDASHI Abolghasem

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE,
une thèse intitulée :

**"Composés pharmaceutiques et eaux usées urbaines. I. Analyse bibliographique. II.
Effet de deux antibiotiques de type macrolide sur les boues activées"**

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : « **Génie des procédés et des produits** »

Fait à Vandoeuvre, le 27 août 2007

Le Président de l'I.N.P.L.

F. LAURENT



NANCY BRABOIS
2, AVENUE DE LA
FORET-DE-HAYE
BOITE POSTALE 3
F - 54501
VANDŒUVRE CEDEX

Résumé

Les principaux points de dispersion des composés pharmaceutiques dans l'environnement sont les stations d'épuration des eaux usées. A partir de l'analyse de la base de données constituée au cours de ce travail, les quantités de ces composés trouvées dans ces installations peuvent être directement liées à celles de médicaments consommés. La situation, quant à leur élimination de la phase liquide, est contrastée. Ainsi certaines hormones sont éliminées avec des rendements importants mais d'autres ne le sont pas du tout. Les produits radio-contrastants à base d'halogènes et notamment d'iode, soupçonnés d'être cancérigènes, sont majoritairement non biodégradables. Les effets d'antibiotiques sur les boues activées ont été plus particulièrement étudiés du fait de leur consommation, de leur présence dans les milieux aquatiques et de leur action spécifique sur les bactéries. Des expériences permettant d'évaluer la toxicité de ces principes actifs ont été conduites sur des boues activées en réacteur discontinu, avec un suivi de la morphologie des floes par analyse d'images de microscopie optique. Il a été ainsi observé que, selon la concentration utilisée, l'érythromycine et la tylosine, macrolides largement utilisés respectivement en médecine humaine et vétérinaire, inhibent l'élimination de la pollution organique et dégradent l'ensemble de la biomasse. Ces antibiotiques ont également un effet néfaste sur le métabolisme de l'azote, qu'il s'agisse de l'ammonification, de la nitrification et de la nitrification.

Abstract

The main sources of dispersion of pharmaceutical substances in environment are wastewater treatment plants. Based on the analysis of the database built during this project, the amounts of pharmaceutical substances found in plants can be directly related to the amount consumed. Regarding their elimination from the liquid phase, the situation is very disparate. The elimination yield of hormones can be null or very large. Halogen-based X-ray contrast media (or AOX) are mainly non biodegradable. The effects of antibiotics on activated sludge have been especially investigated due to their consumption, presence in aquatic environment and specific action on bacteria. Batch tests have been performed to evaluate the toxicity of these active pharmaceutical ingredients on activated sludge. Sludge morphology was monitored by analysis of light microscopy images. Depending upon the applied dose, erythromycin and tylosin, two macrolides widely used for human and animal health care, inhibit the elimination of organic pollution and damage biomass. These antibiotics have a deleterious effect on ammonification, nitrification and nitrification.